

FABIANO DE MACEDO SALGUEIROSA

**INFLUÊNCIA DA RESISTÊNCIA À INSULINA NA
UTILIZAÇÃO DE LIPÍDEOS E CARBOIDRATOS
DURANTE O REPOUSO E EXERCÍCIO CONTÍNUO DE
INTENSIDADE PROGRESSIVA.**

Dissertação de Mestrado defendida
como pré-requisito para a obtenção do
título de Mestre em Educação Física,
no Departamento de Educação Física,
Setor de Ciências Biológicas da
Universidade Federal do Paraná.

FABIANO DE MACEDO SALGUEIROSA

**INFLUÊNCIA DA RESISTÊNCIA À INSULINA NA
UTILIZAÇÃO DE LIPÍDEOS E CARBOIDRATOS
DURANTE O REPOUSO E EXERCÍCIO CONTÍNUO DE
INTENSIDADE PROGRESSIVA.**

Dissertação de Mestrado defendida como pré-requisito para a obtenção do título de Mestre em Educação Física, no Departamento de Educação Física, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof^ª. Dra. Maria Gisele dos Santos

AGRADECIMENTOS

À minha mãe e irmãos pelo amor e apoio incondicionais. Sem vocês nada disso faria sentido. Amo vocês!!!

À minha orientadora, prof. Dra. Maria Gisele dos Santos, pela dedicação e pela paciência durante a realização deste trabalho, mas principalmente pela compreensão no momento mais difícil da caminhada.

À toda a galera do CEPEFIS pela força; Jeffer, Ricardo, Renata, Vinícius, Paola e Lu (essa não é do CEPEFIS mas sempre esteve por perto).

Ao pessoal do Laboratório de Análises do Hospital de Clínicas, Dra. Flávia, Dra Karina e principalmente à Elise.

Aos professores e amigos Cândido Simões Pires Neto e Gerson Dál-Col pelo apoio e por acreditarem em mim.

Aos meus grandes amigos Elis, Nina e Andrey pela amizade e pelo apoio.

SUMÁRIO

AGRADECIENTOS	ii
LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE GRÁFICOS	vii
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
1.0 INTRODUÇÃO	1
1.1 APRESENTAÇÃO DO PROBLEMA	2
1.2 OBJETIVOS	2
1.2.1 Objetivo Geral	2
1.2.2 Objetivos Específicos	3
1.3 HIPÓTESES	3
2.0 REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1 DIABETES MELLITUS	4
2.1.1 Complicações Crônicas	6
2.2 RESISTÊNCIA À INSULINA	7
2.2.1 Mecanismos de sinalização da insulina	7
2.2.2 Captação da Glicose Pelas Células	9
2.2.3 Mecanismos Envolvidos na Resistência à Insulina	11
2.3 METABOLISMO DOS LIPÍDEOS DURANTE O EXERCÍCIO	15
2.4 METABOLISMO DOS CARBOIDRATOS DURANTE O EXERCÍCIO	17
2.5 SELEÇÃO DE SUBSTRATO DURANTE O EXERCÍCIO	20
3.0 METODOLOGIA	22
3.1 POPULAÇÃO E AMOSTRA	22
3.1.1 População	22
3.1.2 Amostra	22
3.2 PROCEDIMENTOS	23
3.2.1 Sensibilidade à insulina	23
3.2.2 Variáveis Antropométricas e Composição Corporal	24
3.2.3 Calorimetria Indireta	24

	iv
3.2.4 Balanço de substrato em repouso	25
3.2.5 Determinação da intensidade de exercício com taxa máxima de oxidação de gorduras (Fat max), Crossover point e consumo máximo de oxigênio (VO ₂ máx).	25
3.2.6 Exames laboratoriais	26
3.3 Planejamento da Pesquisa e Análise estatística	28
4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4.1 Características dos Sujeitos	30
4.2 Utilização de carboidratos e lipídeos durante o repouso e exercício	32
5.0 CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS.....	40
ANEXOS	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores de glicose plasmática (em mg/dl) para o diagnóstico do DM e seus estágios pré-clínicos	5
Tabela 2 – Variáveis antropométricas e de composição corporal dos sujeitos do estudo	30
Tabela 3– Consumo máximo de oxigênio dos sujeitos do estudo.....	31
Tabela 4– Variáveis bioquímicas e resistência à insulina (HOMA-IR) dos sujeitos do estudo	31
Tabela 5–Consumo de oxigênio e utilização de substrato em repouso.	32
Tabela 6- Fat max, consumo de lipídeos e carboidratos na intensidade do Fat max e <i>crossoverpoint</i>	34

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Estrutura do receptor de insulina	8
Figura 2 - Correlação entre sensibilidade à insulina e o conteúdo de triaglicerídeos intramiocelulares.....	12
Figura 3 - O ciclo glicose ácido-graxo	13
Figura 4 - Resistência à insulina induzida por ácidos graxos.....	14
Figura 5 - Regulação da lipólise	16
Figura 6 - Reações da glicólise	19
Figura 7 - O ponto de cruzamento (<i>crossover point</i>)	21

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1– Resistência à insulina (HOMA-IR) dos grupos RI e CON	32
Gráfico 2- Consumo de lipídeos e carboidratos durante o repouso.....	33
Gráfico 3– Fat max dos grupos RI e CON.....	35
Gráfico 4- Consumo de lipídeos e carboidratos na intensidade do Fat max	36
Gráfico 5 – Correlação entre a resistência à insulina e o consumo de substratos em repouso e no Fat max	37

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi analisar a influência da resistência à insulina na utilização de lipídeos e carboidratos durante o repouso e exercício contínuo de intensidade progressiva. A amostra foi composta por 12 sujeitos, sedentários, do sexo masculino, divididos em 2 grupos ($>RI$ e $<RI$) de acordo com o grau de resistência à insulina (HOMA-IR). Os grupos foram semelhantes em relação ao índice de massa corporal, percentual de gordura, massa corporal magra e consumo máximo de oxigênio. Foram analisados, utilizando calorimetria indireta, a utilização de lipídeos e carboidratos durante o repouso, o ponto de cruzamento entre as fontes energéticas (crossover point), a intensidade correspondente a maior utilização de gorduras (Fat max), assim como a utilização de lipídeos e carboidratos nesta intensidade. Para todas as comparações entre os grupos ($>RI$ e $<RI$) foi utilizado o teste de MANN-WHITNEY. Não foram observadas diferenças significativas nas intensidades do Fat max ($37,35 \pm 7,99$ vs. $39,81 \pm 3,84\%$ do $VO_2\text{máx}$) e Crossoverpoint ($40,08 \pm 7,19$ vs. $40,67 \pm 5,12\%$ do $VO_2\text{máx}$). Também não se observaram diferenças significativas no balanço de substrato, tanto em repouso ($0,095 \pm 0,009$ vs. $0,069 \pm 0,028$ g/min, $0,244 \pm 0,082$ vs. $0,250 \pm 0,073$ g/min, para lipídeos e carboidratos, respectivamente) quanto na intensidade correspondente ao Fat max ($0,397 \pm 0,087$ vs. $0,230 \pm 0,076$ g/min, $0,689 \pm 0,229$ vs. $0,867 \pm 0,222$ g/min, para lipídeos e carboidratos, respectivamente). Conclui-se que, na amostra estudada, a resistência à insulina não influenciou a intensidade do Crossover point e do Fat max, assim como o balanço de substrato em repouso e na intensidade correspondente ao Fat max.

ABSTRACT

The purpose of this study was to analyze the influence of insulin resistance on the balance between carbohydrate and fat utilization at rest and progressive intensity exercise. Twelve sedentary male subjects were divided into two groups ($>RI$ and $<RI$) according with insulin resistance index (HOMA-IR). The groups had similar body mass index, %fat, lean mass and VO_2 max. Was analyzed with indirect calorimetry the carbohydrate and fat utilization at rest, the crossover point, the exercise intensity that elicits maximal fat oxidation (Fat max) and the carbohydrate and fat utilization at Fat max. All variables were compared by MANN-WHITNEY test. There were no significant differences between group in Fat max ($37,35 \pm 7,99$ vs. $39,81 \pm 3,84\%VO_{2max}$) and Crossoverpoint ($40,08 \pm 7,19$ vs. $40,67 \pm 5,12\%VO_{2max}$). Also had not been observed significant difference in the substrate balance at rest ($0,095 \pm 0,009$ vs. $0,069 \pm 0,028$ g/min, $0,244 \pm 0,082$ vs. $0,250 \pm 0,073$ g/min, fat and carbohydrate, respectively) and at Fat max ($0,397 \pm 0,087$ vs. $0,230 \pm 0,076$ g/min, $0,689 \pm 0,229$ vs. $0,867 \pm 0,222$ g/min, fat and carbohydrate, respectively). In conclusion, the insulin resistance did not influence the Crossover point and Fat max, as well as the substrate balance at rest and at Fat max.

1.0 INTRODUÇÃO

O Diabetes Mellitus (DM) é apontado hoje como um dos maiores problemas de saúde pública. Estima-se que em 2030 aproximadamente 366 milhões de pessoas serão portadoras de algum tipo de DM (WILD *et al.*, 2004). O DM tipo 2 (DM2) é causado principalmente pela resistência à insulina, definida por Hunter e Garvey (1998) como “estado clínico no qual observa-se concentração normal ou elevada de insulina que produz uma resposta biológica atenuada”, manifestando-se 10 a 20 anos antes de se observarem os sintomas do DM2.

Nos anos anteriores ao aparecimento dos sintomas do DM2, apesar da resistência à insulina ser observada, ocorre aumento da secreção de insulina, ou seja, hiperinsulinemia compensatória, mantendo concentrações glicêmicas normais até que ocorram disfunções nas células beta e incapacidade em se controlar a glicemia levando assim ao diagnóstico do DM2 (CEFALU, 2001).

Diferentes pesquisadores têm observado que sujeitos com resistência à insulina mostram alterações no metabolismo energético. Braun *et al.* (2004) mostraram que em mulheres com sobrepeso o grupo de resistentes à insulina oxidou menos carboidratos que o grupo controle. Blaak *et al.* (2000) observaram em diabéticos do tipo 2, obesos, redução na oxidação de ácidos graxos plasmáticos, mas sem diferenças na oxidação total de gorduras e carboidratos, quando comparados à do grupo controle. Em outro estudo Borghouts *et al.* (2002) estudaram pacientes diabéticos tipo 2 não obesos. Neste estudo não foi encontrada alterações na oxidação de gorduras nem carboidratos. Deve ser observado nos dois últimos estudos citados que os sujeitos eram diabéticos do tipo 2, portanto, hiperglicêmicos.

Uma característica em comum a quase todos os estudos que mensuraram o balanço de substrato em sujeitos com resistência à insulina, diabetes e obesidade foi a utilização de percentuais fixos do VO_2 máx para o controle da intensidade. Porém estudos têm demonstrado grandes diferenças inter-individuais na utilização de gorduras durante o exercício. Achten *et al.* (2002) observaram que ciclistas de fundo atingiram a taxa máxima de oxidação de gorduras (Fat máx) em intensidades que variaram de 42 a 84% ($64 \pm 4\%$) do VO_2 máx.

Ainda, Achten e Jeukendrup (2004) mensuraram o Fat max de triatletas e ciclistas e relacionaram com o lactato plasmático. O Fat max foi encontrado em intensidade de $63\pm 9\%$ e o limiar de lactato em $61\pm 5\%$, não havendo diferenças significativas entre os dois. Embora não tenha sido reportada no estudo a variação do Fat max, provavelmente esta foi maior que a observada no estudo anterior devido ao elevado desvio padrão, salientando uma vez mais as diferenças inter-individuais nesta variável.

Diante destes resultados pode-se especular que é possível que a taxa máxima de oxidação de gorduras ocorra em intensidades diferentes em pessoas resistentes à insulina, mas a oxidação absoluta de gorduras e carboidratos não seja diferente da de pessoas sensíveis à insulina, quando a intensidade do exercício é controlada pela taxa máxima de oxidação de gorduras ou pelo limiar anaeróbico.

O estudo de Perez-Martin *et al.* (2001) dá suporte a esta hipótese. Neste estudo foi observado que, o *crossover point* (ponto onde a contribuição relativa do metabolismo de carboidratos supera o das gorduras na produção de energia) ocorreu em intensidades significativamente menores em sujeitos com sobrepeso quando comparados ao de sujeitos com peso normal e a taxa máxima de oxidação de gorduras também ocorreu em intensidades significativamente menores. Contudo, até o presente momento não há estudos mostrando se o mesmo ocorre em sujeitos resistentes à insulina não-obesos.

1.1 APRESENTAÇÃO DO PROBLEMA

Existem diferenças significativas na utilização de substrato (carboidratos e gorduras) em sujeitos do sexo masculino com maior resistência à insulina quando comparados a sujeitos com menor resistência à insulina durante o repouso e exercício contínuo de intensidade progressiva?

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Analisar a influência da resistência à insulina na utilização de lipídeos e carboidratos durante o repouso e exercício contínuo de intensidade progressiva.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Comparar a utilização de gorduras e carboidratos de sujeitos com maior resistência à insulina ($>RI$) e sujeitos com menor resistência à insulina ($<RI$) em repouso.

- Comparar a intensidade em que se demonstra a máxima taxa de oxidação de gorduras (Fat máx) de sujeitos com maior resistência à insulina ($>RI$) e sujeitos com menor resistência à insulina ($<RI$).

- Comparar a utilização de gorduras e carboidratos na intensidade em que se demonstra a taxa máxima de oxidação de gorduras de sujeitos com maior resistência à insulina ($>RI$) e sujeitos com menor resistência à insulina ($<RI$).

- Comparar a intensidade de exercício em que ocorre o ponto de cruzamento das fontes energéticas (crossover point) de sujeitos com maior resistência à insulina ($>RI$) e sujeitos com menor resistência à insulina ($<RI$).

1.3 HIPÓTESES

HIPÓTESE NULA: Não existem diferenças significativas na utilização de substrato de sujeitos com maior resistência à insulina ($>RI$) e sujeitos com menor resistência à insulina ($<RI$).

HIPÓTESE 1: Existem diferenças significativas na utilização de substrato em de sujeitos com maior resistência à insulina ($>RI$) e sujeitos com menor resistência à insulina ($<RI$).

2.0 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 DIABETES MELLITUS

De acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes (2003) o Diabetes Mellitus (DM) é uma síndrome de etiologia múltipla, decorrente da falta de insulina e/ou da incapacidade da insulina exercer adequadamente seus efeitos. É caracterizada por hiperglicemia crônica e freqüentemente acompanhada de dislipidemia, hipertensão arterial e disfunção endotelial. A hiperglicemia crônica do diabetes é associada a longo prazo com danos, disfunção e falência de vários órgãos como olhos, rins, nervos, coração e veias.

A American Diabetes Association (2004) classifica o DM em cinco grupos distintos: tipo 1, tipo 2, outros tipos específicos de DM, DM gestacional e tolerância à glicose diminuída.

O DM tipo 1, antigamente descrito como insulino-dependente ou diabetes de início na juventude, mostra prevalência de apenas 5 a 10% dos casos resulta de uma destruição autoimune ou, menos comumente, idiopática das células beta, geralmente ocasionando deficiência absoluta de insulina e tendência à cetoacidose. Segundo Gross *et al.* (2002) o pico de incidência do DM tipo 1 ocorre dos 10 aos 14 anos de idade, havendo a seguir uma diminuição progressiva da incidência até os 35 anos, de tal maneira que casos de diabetes tipo 1 de início após esta idade são pouco freqüentes. No entanto, indivíduos de qualquer idade podem desenvolver DM tipo 1.

O DM tipo 2, antigamente chamado de não-insulino-dependente ou diabetes da maturidade corresponde a aproximadamente 90 a 95% dos casos. O DM tipo 2 compreende os indivíduos que apresentam resistência à insulina e comumente deficiência relativa de insulina. A grande maioria dos pacientes são obesos (um fator que por si só pode levar a resistência à insulina). A idade de início do diabetes tipo 2 é variável, embora seja mais freqüente após os 40 anos de idade, com pico de incidência ao redor dos 60 anos (GROSS *et al.*, 2002).

Os outros tipos de diabetes compreendem defeitos genéticos na célula beta, defeitos genéticos na ação da insulina, doenças do pâncreas exócrino, endocrinopatias, diabetes induzido por fármacos e agentes químicos, infecções,

formas incomuns de diabetes imunomediado, outras síndromes genéticas associadas ao diabetes.

O DM gestacional é definido como algum grau de intolerância à glicose com início ou com primeiro diagnóstico durante a gestação e ocorre normalmente durante o terceiro trimestre da gestação. O DM gestacional ocorre em aproximadamente 4% das gestações nos Estados Unidos, correspondendo a em média 135.000 casos anualmente.

A tolerância à glicose diminuída corresponde a um grupo intermediário de sujeitos que apesar das concentrações de glicose não atingirem o critério para diagnóstico do DM (que será discutido adiante), são elevados para serem considerados normais.

O diagnóstico dos diferentes tipos de DM pode ser feito através do valor de glicemia em jejum, casual ou do teste oral de tolerância à glicose (TTG) que consiste na ingestão de 75g de glicose dissolvida em água, sendo avaliada a glicose plasmática antes da ingestão e 2h após. Os critérios para o diagnóstico são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Valores de glicose plasmática (em mg/dl) para o diagnóstico do DM e seus estágios pré-clínicos

CATEGORIA	JEJUM	2h APÓS 75g DE GLICOSE	CASUAL **
Glicemia Normal	<110	<140	
Tolerância à glicose diminuída	≥110 e < 126	≥ 140 e < 200	
Diabetes Mellitus	≥ 126	≥ 200	≥ 200 (com sintomas clássicos)***

* o jejum é definido como a falta de ingestão calórica por no mínimo oito horas.

** glicemia plasmática casual é definida como aquela realizada a qualquer hora do dia, sem se observar o intervalo desde a última refeição.

*** os sintomas clássicos de DM incluem poliúria, polidipsia e perda inexplicada de peso.

FONTE: Sociedade Brasileira de Diabetes (2003)

O estudo de WILD *et al.* (2004) que teve como objetivo estimar o número de pessoas portadoras de DM em 2000 e para o ano de 2030 baseado em dados de alguns países e extrapolados para os 191 países membros da Organização Mundial de Saúde mostra dados alarmantes. A prevalência de DM no mundo foi estimada em 2,8% em 2000 e em 4,4% em 2030. O número total de pessoas portadoras de DM foi projetado em 171 milhões em 2000 e será de aproximadamente 366 milhões em 2030.

Malerbi e Franco (1992) mostraram que o DM acometia cerca de 7,6% da população brasileira entre 30 e 69 anos de idade. Dos portadores de DM, cerca de 50% dos pacientes desconheciam o diagnóstico e 24% dos pacientes, reconhecidamente portadores de DM, não faziam qualquer tipo de tratamento.

Atualmente, cerca de 12 milhões de brasileiros são portadores de DM. Estima-se que destes, 7,8 milhões de indivíduos têm diagnóstico confirmado e 4 milhões estão sem diagnóstico. De acordo com dados do Ministério da Saúde (Datusus), durante o ano de 1997, a taxa de mortalidade por diabetes no Brasil foi de 17,24%, representando 27.515 indivíduos falecidos especificamente por diabetes (MELO *et al.*, 2003).

2.1.1 Complicações Crônicas

As complicações crônicas do DM são as principais responsáveis pela morbidade e mortalidade dos pacientes diabéticos. As doenças cardiovasculares representam a principal causa de morte (52%) em pacientes diabéticos do tipo 2. Diversos fatores de risco, passíveis de intervenção, estão associados ao maior comprometimento cardiovascular observado nos pacientes diabéticos. Entre eles estão a presença da Nefropatia Diabética e da Hipertensão Arterial (GROSS e NEHME, 1999).

Segundo os mesmos autores a Nefropatia Diabética atinge cerca de 40% dos diabéticos sendo a principal causa de insuficiência renal de pacientes que ingressam em programas de hemodiálise. Destes cerca de 40% morrem no primeiro ano de tratamento, principalmente por doença cardiovascular.

No caso da hipertensão arterial, sua prevalência em portadores de DM tipo 2 é maior que na população em geral, principalmente em pacientes jovens. Aos 45 anos aproximadamente 40% dos pacientes com DM tipo 2 são hipertensos e esta proporção se eleva para 60% aos 75 anos.

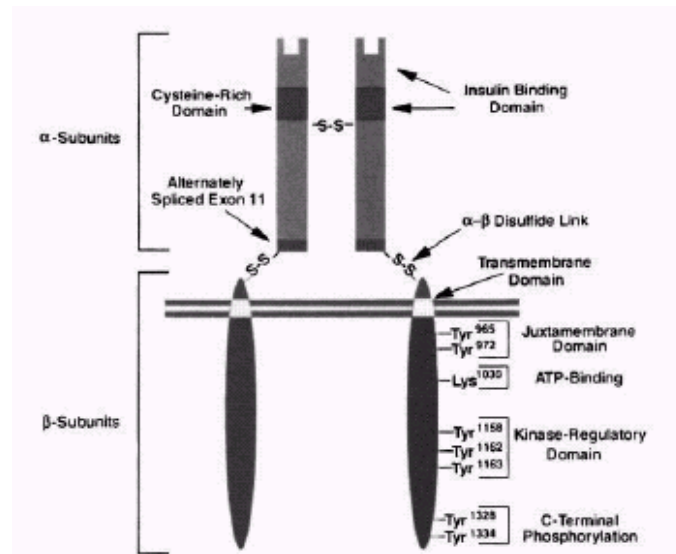
2.2 RESISTÊNCIA À INSULINA

Segundo Hunter e Garvey (1998) a resistência à insulina é definida como um estado clínico no qual concentração normal ou elevado de insulina produz resposta biológica atenuada. Tal anormalidade ocorre principalmente devido a ação defeituosa da insulina em tecidos periféricos sensíveis à insulina tais como: tecido adiposo, muscular e hepático (REAVEN, 1988).

2.2.1 Mecanismos de sinalização da insulina

A insulina desencadeia diversos processos metabólicos nas células ligando-se a receptores na superfície celular. Tais receptores são encontrados em tecidos classicamente sensíveis à insulina como músculo, fígado e adipócitos e também em tecidos que são tradicionalmente vistos como não sensíveis à insulina como o cérebro, eritrócitos e gônadas (WHITE e KAHN, 1994).

O receptor da insulina é uma proteína heterotetramétrica com atividade kinase, composta por duas subunidades α e duas β , ligadas por pontes dissulfeto formando uma estrutura β - α - α - β (Figura 2.1). A subunidade α contém o domínio de ligação da insulina, enquanto que a subunidade β possui uma atividade tirosina kinase estimulada pela insulina (CHEATHAM e KAHN, 1995).

Figura 1- Estrutura do receptor de insulina

FONTE: CHEATHAM e KAHN (1995)

Quando a insulina liga-se à subunidade α do receptor, promove alteração conformacional no receptor, levando à estimulação da atividade kinase da subunidade β . Uma vez ativada a subunidade β se autofosforila em pelo menos seis locais de tirosina.

Seguindo a ativação, o receptor de insulina estimula a transferência de grupamentos fosfato para tirosina em substratos intracelulares do receptor (WHITE e KAHN, 1994). O primeiro substrato a ser caracterizado foi chamado de substrato do receptor de insulina 1 (IRS-1). Atualmente dez substratos do receptor de insulina foram identificados (CARVALHEIRA *et al.*, 2002), dentre eles IRS-1, IRS-2, IRS-3, Gab-1 e SHC.

Espalhados pelo IRS estão vários locais de fosforilação em tirosina ativados pela estimulação da insulina. Esta fosforilação do IRS permite que o mesmo ligue-se a certas proteínas, dentre as quais se destaca uma enzima chamada fosfatidilinositol 3-kinase (PI 3-kinase) que é considerada a maior ligação entre IRS1 e os efeitos metabólicos da insulina (WHITE e KAHN, 1994) e a única molécula intracelular considerada essencial para o transporte da glicose (CZECH e CORVERA, 1999).

A PI 3-kinase é constituída de duas subunidades: uma regulatória (p85) que permite sua ligação ao IRS e uma catalítica (p110). A ativação da PI 3-kinase está

associada ao desencadeamento de diversos processos metabólicos como o aumento da translocação de GLUT-4 para captação de glicose, síntese de glicogênio e síntese protéica.

2.2.2 Captação da Glicose Pelas Células

Um dos processos desencadeados na célula pela ação da insulina é a captação da glicose sanguínea.

Para entrar nas células a glicose precisa ser carregada por transportadores específicos. Estes transportadores são chamados GLUT (*glucose transporter*) e consistem em um grupo de 5 proteínas transmembrana: GLUT 1, 2, 3, 4 e 5 que são encontradas em diferentes tecidos (SHEPHERD e KAHN, 1999):

- GLUT 1 – Amplamente expresso; altas concentrações no cérebro, eritrócitos e células endoteliais. É o transportador de glicose constitutivo.

- GLUT 2 – Encontrado nos rins, intestino delgado, epitélio, fígado e células β -pancreáticas. Possui baixa afinidade à glicose e desempenha um papel na modulação das ilhotas pancreáticas à concentração de glicose.

- GLUT 3 – Encontrado nos neurônios e placenta. Possui alta afinidade à glicose.

- GLUT 4 – Encontrado no músculo esquelético, músculo cardíaco e tecido adiposo. É o transportador de glicose responsivo à insulina.

- GLUT 5 - Encontrado no intestino delgado, esperma, rins, cérebro, tecido adiposo e muscular. É o transportador da frutose e possui uma baixa afinidade à glicose.

O único transportador de glicose dependente da insulina para desempenhar sua ação é o GLUT 4. Como visto, este transportador é encontrado, principalmente, nos músculos e tecido adiposo, e como o músculo é o principal tecido responsável pela captação de glicose sanguínea a ação da insulina torna-se de grande importância para a manutenção da glicemia.

Na ausência de um estímulo como a insulina (ou exercício), aproximadamente 90% do GLUT 4 encontra-se estocado dentro de vesículas intracelulares específicas. Na presença de estímulo, ocorre movimento do GLUT 4 para fora destas vesículas, translocando-se para a superfície da célula e ligando-se

à membrana para a captação da glicose (CZECH e CORVERA, 1999; SHEPHERD e KAHN, 1999). No caso da captação da glicose estimulada pela insulina a translocação do GLUT 4 ocorre em decorrência da ativação da PI 3-kinase, porém estudos têm demonstrado que o exercício tem um efeito estimulador na translocação de GLUT 4 mesmo na ausência da insulina.

Ploug *et al.* (1984) observaram, pela primeira vez, em músculos isolados de ratos submetidos à eletroestimulação que a captação de glicose aumentou em até 5 vezes, independente da presença de insulina, contrariando o que se acreditava até então, que seria necessário um mínimo de insulina para o aumento na captação de glicose, observada durante a contração muscular.

Em outro estudo (DOUEN *et al.*, 1990) também utilizando músculos de ratos, foi demonstrado que tanto a insulina quanto a contração muscular estimularam a captação de glicose via GLUT 4. No mesmo estudo os autores levantaram a hipótese de existirem dois “pools” distintos de GLUT 4, um sensível à insulina e outro sensível à contração.

Em um estudo com humanos, Kennedy *et al.* (1999) estudaram a translocação de GLUT 4 após uma sessão de 45 a 60 minutos de exercício em cicloergômetro à 60 a 70% do VO_2 máx em sujeitos normais e portadores de DM2. O conteúdo de GLUT 4 presente na membrana aumentou em $74 \pm 20\%$ nos portadores de DM2 e $71 \pm 18\%$ nos sujeitos normais. Esses resultados mostraram que apesar de defeitos nos mecanismos responsáveis pela captação de glicose via insulina, portadores de DM2 são responsivos à translocação de GLUT 4 induzida pelo exercício.

Já que a translocação do GLUT 4 no músculo esquelético, via mecanismo insulino-dependente, é mediado pela ativação da PI-3 kinase, esta via sinalizadora poderia também estar envolvida na translocação estimulada pela contração.

Para testar esta hipótese Goodyear *et al.* (1995) estudaram ratos após contrações do trem posterior induzidas por eletroestimulação do nervo ciático por períodos de 15 segundos a 20 minutos e após somente a utilização de insulina. Após a injeção de insulina foi observado um aumento na fosforilação em tirosina do receptor de insulina e IRS-1 e também na atividade da PI-3 kinase. Porém o mesmo não foi observado quando se utilizavam as contrações isoladamente. Estes

dados mostram que existem mecanismos distintos envolvidos na translocação de GLUT 4 estimulados pela insulina e contração.

Embora os mecanismos envolvidos na translocação de GLUT 4 estimulada pela contração não tenham sido totalmente elucidados, sugere-se que vários elementos estejam envolvidos, dentre eles o a proteína kinase estimulada pelo AMP (AMPK) e o cálcio (Ca^{2+}).

A AMPK tem sido apontada como um mediador dos efeitos da contração muscular na translocação de GLUT 4. A AMPK é sensível ao estado energético da célula, sendo ativada pela relação AMP/ATP e creatina/fosfocreatina. Além disso, a AMPK é também sensível às concentrações de fontes energéticas da célula, como por exemplo, o estoque de glicogênio. Como a atividade contrátil altera tanto as concentrações de fontes energéticas, quanto o estado energético da célula a AMPK é ativada em resposta ao exercício e possivelmente está relacionada ao transporte de glicose induzida pelo exercício (JESSEN e GOODYEAR, 2005) embora possivelmente não seja a única envolvida.

Outro possível mediador é o Ca^{2+} liberado pelo retículo sarcoplasmático durante as contrações (ZORZANO *et al.*, 2005). Segundo Jessen e Goodyear (2005) é improvável que o Ca^{2+} ative diretamente o transporte de glicose já que sua concentração encontra-se elevada por uma pequena fração de segundo durante a contração. É provável que o Ca^{2+} ative uma ou mais proteínas como as kinases dependentes de calmodulina (CaMK) e a proteína kinase C (PKC).

2.2.3 Mecanismos Envolvidos na Resistência à Insulina

A resistência à insulina ocorre quando as concentrações circulantes de insulina não são suficientes para regular apropriadamente seus processos, resultante de um defeito na transdução de sinal (PESSIN e SALTIEL, 2000).

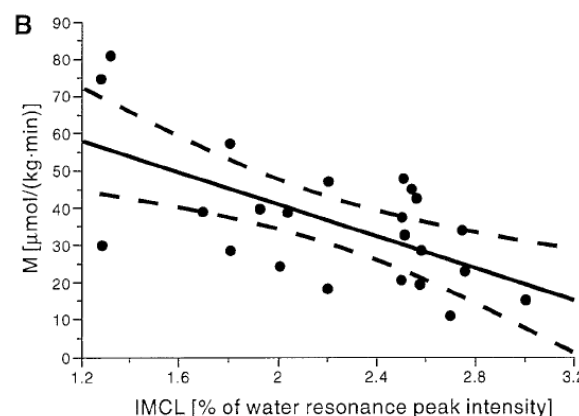
Apesar da causa específica da resistência à insulina ser desconhecida sabe-se que problemas no metabolismo lipídico, e em particular um aumento da disponibilidade de lipídeos estão fortemente relacionados, sugerindo que o aumento na disponibilidade de lipídeos pode transtornar a interação entre o metabolismo de gorduras e carboidratos (HEGARTY *et al.*, 2003).

Sabe-se que além da hiperglicemia, o indivíduo portador de DM2 quase que invariavelmente apresenta distúrbios no metabolismo de gorduras, frequentemente refletidos por concentrações elevadas de AGL e TAG circulantes, além de excessiva deposição de gorduras em vários tecidos, incluindo o músculo (MCGARRY, 2002)

Um exemplo disso são os vários estudos que têm demonstrado uma forte correlação entre os triglicerídeos intramiocelulares e a resistência à insulina.

Krssak *et al.* (1999) estudaram adultos jovens com peso normal, utilizando Espectroscopia de Ressonância Magnética de Prótons (^1H -ERM) para a determinação dos triglicerídeos intramiocelulares e o clamp euglicêmico-hiperinsulinêmico para a determinação da sensibilidade à insulina. Os autores encontraram uma correlação de $r = -0,692$ entre os dois parâmetros (Figura 2).

Figura 2 - Correlação entre sensibilidade à insulina e o conteúdo de triaglicerídeos intramiocelulares



FONTE: KRSSAK *et al.* (1999)

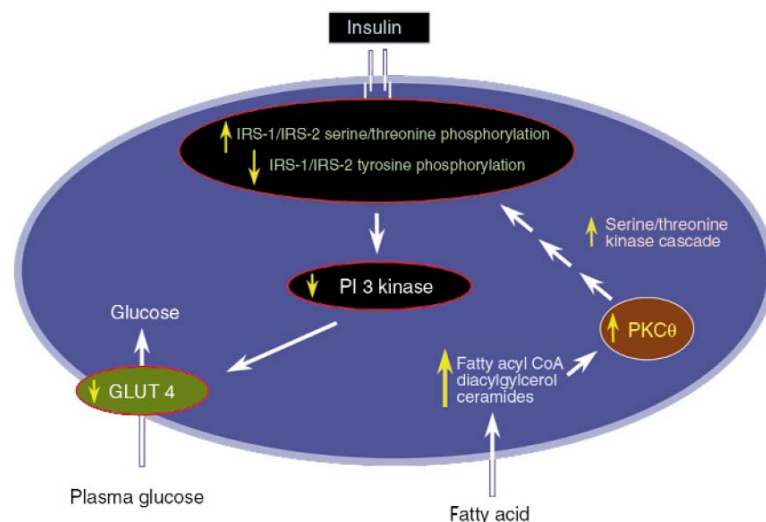
Em outro estudo Perseghin *et al.* (1999) utilizando as mesmas técnicas do estudo anterior mostrou que filhos de portadores de DM2, apresentaram concentrações significativamente maiores de triglicerídeos intramiocelulares e de resistência à insulina do que sujeitos sem histórico familiar de DM2. Essa elevação no conteúdo de triglicerídeo intramiocelulares parece estar associada à uma redução na fosforilação do receptor de insulina e na atividade da Pi 3-kinase associada ao IRS-1 (VIRKAMAKI *et al.*, 2001).

Várias hipóteses foram levantadas para explicar o mecanismo pelo qual concentrações elevadas de lipídeos poderiam causar a resistência à insulina, sendo

após a infusão de lipídeos, mostrando que a atividade da hexocinase II não estava reduzida, o que novamente vai contra o mecanismo de Randle. Os autores argumentam que tais achados sugerem que a infusão de lipídeos causou resistência à insulina através de uma inibição da atividade de transporte de glicose, já que no mesmo estudo, foi observada uma redução na atividade do IRS-1 associado à PI 3-kinase.

A partir destes estudos foi proposto o seguinte mecanismo (Figura 4), pelo qual o aumento da disponibilidade de ácidos graxos poderia induzir resistência à insulina (SHULMAN, 2000).

Figura 4 - Resistência à insulina induzida por ácidos graxos



FONTE: SHULMAN (2000).

Um aumento da disponibilidade de ácidos graxos para a célula ou uma redução do metabolismo intracelular dos ácidos graxos leva a um aumento na sua quantidade e de seus metabólitos (diacilglicerol, acil CoA gordurosa e ceramidas). Estes metabólitos ativam uma cascata de fosforilação em serina e treonina dos substratos do receptor de insulina (IRS1, IRS2), desencadeada provavelmente pela proteína kinase tetha. A fosforilação dos substratos do receptor de insulina em serina e treonina reduz sua ação de ativação da PI 3-kinase, reduzindo assim os efeitos da insulina como o transporte de glicose (SHULMAN, 2000).

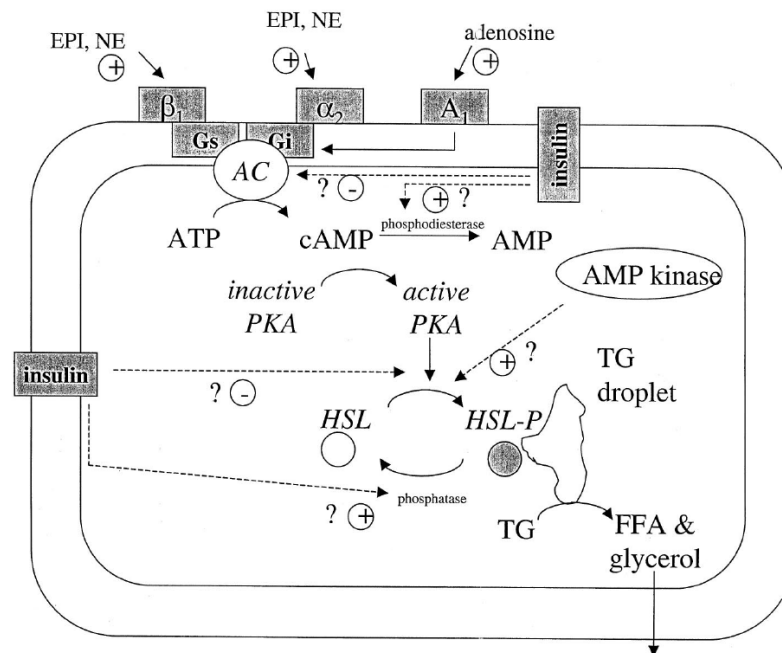
2.3 METABOLISMO DOS LIPÍDEOS DURANTE O EXERCÍCIO

Os lipídeos representam a mais abundante fonte de energia para o organismo. Os triacilgliceróis (TAG) encontram-se armazenados no tecido adiposo (~17.500 mmol em um homem adulto magro), no músculo esquelético (~300 mmol) e no plasma (~0,5 mmol) (HOROWITZ e KLEIN, 2000) tornando os TAG uma importante fonte de energia para o músculo durante a contração. A quantidade de TAG disponíveis no corpo seria suficiente, por exemplo, para uma corrida contínua em ritmo de maratona por 120 horas (FRAYN, 1998).

Para ser utilizado como fonte energética pelos músculos os ácidos graxos livres (AGL) precisam ser hidrolisados (do tecido adiposo, músculo ou plasma) em um processo chamado lipólise e então carregados pelo plasma até as células onde serão oxidados dentro das mitocôndrias.

No tecido adiposo os ácidos graxos estão estocados em forma de TAG. A lipólise é controlada por ação de alguns hormônios: principalmente pelas concentrações de adrenalina e noradrenalina (que podem estimular a lipólise através dos receptores β -adrenérgicos ou inibir a lipólise através dos receptores α -adrenérgicos) e pela insulina que tem um efeito inibitório na lipólise (Figura 5) (HOLM *et al.*, 2000). Assim, aumentos das concentrações de catecolaminas circulantes decorrentes do exercício estimulam a lipólise.

As catecolaminas ligam-se a receptores adrenérgicos nos adipócitos e estimulam através da adenilato ciclase um segundo mensageiro: o AMP cíclico que por sua vez ativa a PKA (proteína kinase A) levando à fosforilação da HSL (lipase hormônio-sensível) (HOLM *et al.*, 2000; SPRIET, 2002). A hidrólise completa dos TAG até glicerol e AGL ocorre em três reações consecutivas, catalisadas por duas enzimas: a HSL que catalisa a hidrólise dos triacilgliceróis e diacilgliceróis e lipase de monoacilgliceróis (MGL), que é requerida para a hidrólise completa dos monoacilgliceróis (LIMA *et al.*, 2002).

Figura 5 - Regulação da lipólise

FONTE: SPRIET (2002)

A insulina inibe a lipólise por meio da ativação da fosfodiesterase 3B (PDE3B) que leva a uma redução das concentrações de AMP cíclico e redução da atividade da PKA (HOLM *et al.*, 2000).

Após a hidrólise completa, os AGL atravessam a membrana do adipócito passivamente ou mediados por proteínas associadas à membrana como a ácido graxo translocase (FAT - *fatty acid translocase*) ou a proteína de transporte de ácidos graxos (FATP - *fatty acid transport protein*) e movem-se pelo inerstício ligados à albumina, passam pela parede dos capilares e novamente ligam-se à albumina circulante e podem ser transportadas para os tecidos como o muscular (JEUKEENDRUP *et al.*, 1998).

Chegando à célula muscular os AGL precisam atravessar a membrana para serem metabolizados. Até recentemente acreditava-se que esse transporte para o interior da célula ocorria por difusão passiva pela membrana celular, porém hoje existem fortes evidências que a maior parte dos AGL que entram na célula muscular é transportada por um sistema carreador (JEUKEENDRUP *et al.*, 1998; SPRIET, 2002).

Segundo Spriet (2002) nos últimos anos três proteínas transportadoras de ácidos graxos foram identificadas e clonadas: a proteína transportadora de ácido graxo presente membrana plasmática (FABPpm – *fatty acid binding protein in the plasma membrane*), a ácido graxo translocase (FAT – *fatty acid translocase*) e a proteína transportadora de ácidos graxos (FATP – *fatty acid transport protein*).

O primeiro passo na captação dos ácidos graxos do plasma é a translocação através da membrana luminal, do compartimento citoplasmático e através da membrana albuminal da célula endotelial. Depois os ácidos graxos precisam ser transportados através do espaço intersticial ligados à albumina. Então os ácidos graxos precisam ser transportados através do sarcolema. Este transporte pode ocorrer por difusão passiva ou ligados à FABPpm ou por proteínas na membrana (FAT e FATP). No citoplasma os ácidos graxos são ligados a uma proteína transportadora citoplasmática: a FABPc e carregados até a mitocôndria para serem oxidados (JEUKENDRUP *et al.*, 1998).

A entrada dos ácidos graxos para o interior da mitocôndria é mediada pelo complexo carnitina palmitoil transferase (CPT). Este consiste basicamente em três proteínas ligadas à membrana mitocondrial: CPT I, acil-carnitina translocase e a CPT II. A CPT I está localizada na superfície externa da membrana externa da mitocôndria e é responsável pelo primeiro passo no transporte do ácido graxo para dentro da mitocôndria: a catalisação dos grupos acil da CoA para a carnitina, formando a acil-carnitina. A acil-carnitina pode então permear o interior da membrana mitocondrial via acil-carnitina translocase e ser movida para dentro da mitocôndria e reconvertida em acil-CoA pela CPT II localizada na superfície interna da membrana interna da mitocôndria. A acil-CoA pode então entrar na via da β -oxidação para a ressíntese de ATP (JEUKENDRUP, 2002; SPRIET, 2002).

2.4 METABOLISMO DOS CARBOIDRATOS DURANTE O EXERCÍCIO

O glicogênio muscular e a glicose sanguínea são importantes substratos para a ressíntese de ATP no músculo ativo durante o exercício (HARGREAVES, 1995) e sua contribuição para a demanda energética total aumenta de acordo com a intensidade do exercício.

No organismo os carboidratos estão armazenados principalmente sobre a forma de glicogênio muscular e hepático.

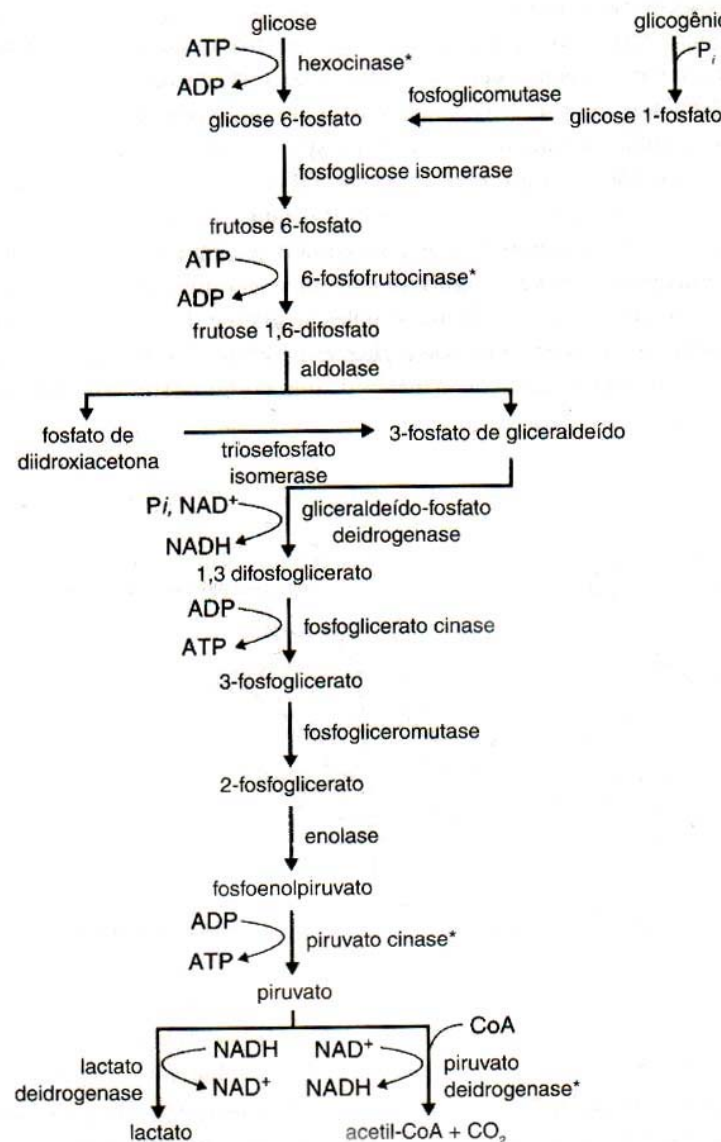
Para serem utilizados como fonte energética para o músculo durante a contração, os carboidratos precisam ser primeiramente convertidos em glicose (WILMORE e COSTILL, 2001). No caso da utilização de glicogênio, este precisa ser convertido em glicose em um processo chamado glicogenólise.

A enzima glicogênio fosforilase, que é considerada uma das enzimas chave do metabolismo dos carboidratos, catalisa o primeiro passo na quebra do glicogênio (HARGREAVES, 1995) e tem sua ação regulada pela ação das catecolaminas adrenalina e noradrenalina através da ativação do AMPc e pela estimulação do cálcio que convertem a forma menos ativa (fosforilase b) na forma mais ativa (fosforilase a) (MAUGHAN *et al.*, 2000).

A quebra do glicogênio muscular é mais rápida durante os estágios iniciais do exercício com sua taxa de utilização sendo exponencialmente relacionada à intensidade do exercício, devido ao aumento das catecolaminas circulantes, e declina com a continuidade do exercício à medida que a disponibilidade de glicogênio diminui (HARGREAVES, 1995).

O glicogênio é quebrado formando glicose 1-fosfato e este é convertido em glicose 6-fosfato pela enzima fosfoglicomutase. Quando a glicose sanguínea é utilizada como substrato, após ser captada pelos GLUT, esta precisa ser também convertida em glicose 6-fosfato. Esta reação é catalisada pela enzima hexocinase (MAUGHAN *et al.*, 2000).

Após a glicose 6-fosfato ser formada seja qual for a fonte (glicose sanguínea ou glicogênio muscular), esta passa por uma série de reações até a formação de piruvato que pode seguir a via aeróbica ou anaeróbica (Figura 6).

Figura 6 - Reações da glicólise

FONTE: MAUGHAN *et al.*(2000)

Dentre estas reações destaca-se a conversão de frutose 6-fosfato para frutose 1,6-difosfato, catalisada pela enzima fosfofrutoquinase (PFK). A PFK é uma das enzimas reguladoras mais intensivamente estudadas (STANLEY e CONNETT, 1991) e uma das enzimas chave na regulação da glicólise (MAUGHAN *et al.*, 2000).

A atividade da PFK é regulada pela concentração de uma série de intermediários metabólicos, dentre eles: frutose 6-fosfato, frutose 1,6-difosfato, ATP, ADP, AMP, íons de hidrogênio, citrato e amônio (STANLEY e CONNETT, 1991). O

maior regulador da atividade da PFK é o estado energético da célula (HARGREAVES, 1995). Ela é inibida pelas concentrações intracelulares de ATP e fosfocreatina, o que significa que a atividade é baixa quando a célula encontra-se repleta de energia, mas elevada quando a carga energética da célula é baixa (MAUGHAN *et al.*, 2000).

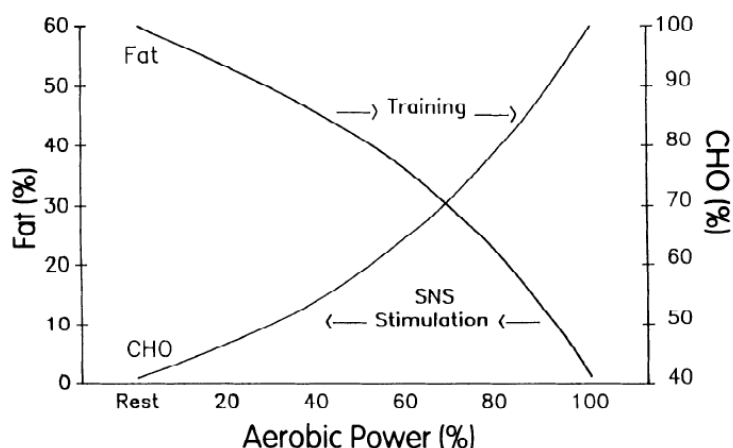
Além da visível importância dos carboidratos como fonte direta de ATP para a contração muscular durante o exercício, eles também são de vital importância para a geração dos substratos que suprem o ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) (HARGREAVES, 1995), tornado-se importante também para o metabolismo das gorduras durante o exercício.

2.5 SELEÇÃO DE SUBSTRATO DURANTE O EXERCÍCIO

De acordo com Powers e Howley (2000) as proteínas contribuem com menos de 2% do substrato utilizado no exercício com menos de 1 hora de duração, possuindo somente um pequeno papel como substrato no exercício, com carboidratos e gorduras servindo como principais fontes de energia de um indivíduo saudável que consome uma dieta balanceada.

Ainda de acordo com o mesmo autor, a seleção do substrato utilizado durante o exercício depende principalmente: da dieta, da intensidade e da duração do exercício.

Durante o exercício de intensidade crescente a contribuição relativa da oxidação dos carboidratos para o gasto energético aumenta com uma correspondente redução na contribuição da oxidação das gorduras (ACHTEN *et al.*, 2002). Esta troca de predominância das fontes energéticas em relação à intensidade do exercício (Figura 7) foi chamada de ponto de cruzamento (*crossover point*). O ponto de cruzamento é identificado como a intensidade na qual a energia derivada da oxidação de combustíveis baseados em carboidratos (glicogênio muscular e hepático, glicose sanguínea e lactato) predominam sobre os derivados de gorduras (triglicerídeos do tecido adiposo e intramiocelulares, assim como ácidos graxos livres e triglicerídeos sanguíneos) (BROOKS e MERCIER, 1994).

Figura 7 - O ponto de cruzamento (*crossover point*)

FONTE: BROOKS e MERCIER (1994)

Esta troca de predominância dos substratos energéticos de acordo com a intensidade do exercício ocorre principalmente por dois fatores: 1) recrutamento de fibras rápidas. Já que com o aumento da intensidade do exercício aumenta a participação das fibras de contração rápida e estas possuem uma grande quantidade de enzimas glicolíticas, ou seja, mais preparadas para metabolizar carboidratos; e 2) o aumento das concentrações sanguíneas de adrenalina. À medida que a intensidade do aumento, ocorre uma elevação das concentrações de adrenalina, que por sua vez estimulam a degradação de glicogênio, a glicólise e consequentemente a produção de lactato. O lactato por sua vez inibe a lipólise

A duração do exercício também é um fator importante para a seleção de substrato durante o exercício. No decorrer do tempo durante o exercício ocorre um aumento gradual da utilização de gorduras e uma redução da utilização de carboidratos. Isso ocorre provavelmente pelos aumentos das concentrações de catecolaminas durante o exercício prolongado estimulando as lípases e pela redução das concentrações de insulina (POWERS e HOWLEY, 2000).

3.0 METODOLOGIA

3.1 POPULAÇÃO E AMOSTRA

3.1.1 População

A população foi constituída por sujeitos do sexo masculino entre 20 e 30 anos resistentes à insulina.

3.1.2 Amostra

A amostra foi constituída por 12 sujeitos do sexo masculino, voluntários, com idade de 20 a 30 anos, distribuídos em 2 grupos:

>RI (n=6) – formado por sujeitos com maior índice de resistência à insulina.

<RI (n=6) – formado por sujeitos com menor índice de resistência à insulina.

Como critério de inclusão foi estabelecido que os indivíduos deveriam possuir um IMC menor ou igual a 25 Kg/m^2 e serem classificados como sedentários. Foram classificados como sedentários os sujeitos que não cumpriam as recomendações do CDC: 30 minutos de atividade física na maioria dos dias da semana (US DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, 1996).

Para a formação do grupo >RI foram convidados sujeitos com um ou de preferência os dois pais portadores de Diabetes Mellitus tipo 2.

Para a formação do grupo <RI foram convidados sujeitos que não possuíam histórico familiar de Diabetes.

Seriam excluídos do estudo sujeitos que apresentassem diabetes, doenças coronarianas, hipertensão, doença vascular periférica, infecções ou outros possíveis problemas de saúde ou estivessem utilizando algum tipo de medicação de uso contínuo. Para se levantar esses dados os indivíduos responderam a uma anamnese (ANEXO 1).

Participaram do estudo apenas os sujeitos que concordaram e assinaram o Termo de consentimento de participação (ANEXO 2).

Todos os procedimentos foram aprovados pelo comitê de ética da Universidade Federal do Paraná.

3.2 PROCEDIMENTOS

O procedimento de coleta de dados seguiu os seguintes passos:

1ª sessão - Os sujeitos realizaram o protocolo para a mensuração da utilização de substratos em repouso. Imediatamente após a coleta de repouso iniciou-se o protocolo para a mensuração da utilização de substrato em exercício.

Neste mesmo dia foram realizadas as mensurações das variáveis antropométricas e de composição corporal e preenchimento da anamnese.

2ª sessão – Em um outro dia (com intervalo máximo de 10 dias da primeira sessão) foi realizada a coleta de sangue para a determinação do nível de resistência à insulina (HOMA).

As sessões foram realizadas sempre no mesmo período do dia (entre 8:00 e 10:00) para evitar possíveis variações circadianas e com jejum de 8 a 12 horas para se evitar possíveis influências da dieta consumida antes dos protocolos experimentais.

Durante todos os procedimentos houve a supervisão de um médico.

3.2.1 Sensibilidade à insulina

A determinação do grau de sensibilidade à insulina foi realizada pelo método “*Homeostasis Model Assessment*” (HOMA), através o software HOMA2 calculator versão 2.2.

O HOMA se baseia nas concentrações plasmáticas de glicose e insulina em jejum para prever a sensibilidade à insulina (%S), resistência à insulina (HOMA-IR) e a função da célula beta (%B) como percentuais de uma população de referência normal.

O método HOMA tem mostrado boas correlações quando comparado com métodos considerados como “padrão-ouro” como o clamp hiperinsulinêmico euglicêmico e clamp hiperinsulinêmico (WALLACE *et al.*, 2004).

Para a classificação da o grau de resistência à insulina foi utilizado o índice HOMA-IR.

3.2.2 Variáveis Antropométricas e Composição Corporal

A estatura e massa corporal dos sujeitos foram mensuradas conforme as recomendações de Gordon *et al.* (1988) e a partir destas foi calculado o Índice de Massa Corporal pela equação:

$$\text{IMC, kg/m}^2 = (\text{Massa Corporal, kg}) / (\text{Estatura, m})^2$$

Para a verificação do percentual de gordura foi utilizada a técnica de dobras cutâneas com um compasso da marca Harpenden seguindo nas mensurações as recomendações de Harrison *et al.* (1988).

A densidade corporal foi calculada através do protocolo de Jackson e Pollock (1978) de 7 dobras, pela equação:

$$Dc = 1,1120 - 0,00043499 * (X1) + 0,00000055 * (X1)^2 - 0,00028826 * (X2)$$

onde X1=somatório das dobras peitoral, axilar, tríceps, subescapular, abdominal, supra-ílica e coxa; e X2= idade em anos.

O percentual de gordura (%G) foi calculado através da seguinte equação (SIRI, 1961):

$$\%G = (495/Dc) - 450$$

3.2.3 Calorimetria Indireta

Para a análise da utilização de substratos nos diferentes protocolos (taxa máxima de consumo de gorduras, balanço de substrato em repouso, balanço de substrato em exercício e crossoverpoint) foi utilizada a técnica de calorimetria indireta.

O cálculo da taxa de oxidação de lipídios e carboidratos foi realizado a partir de mensurações de trocas gasosas a cada respiração, de acordo com quociente

respiratório não protéico, pelas seguintes equações (PERONNET e MASSICOTTE, 1991):

$$\text{CHO (g/min)} = (4,585 * \text{VCO}_2) - (3,2255 * \text{VO}_2)$$

$$\text{Gorduras (g/min)} = -(1,7012 * \text{VCO}_2) + (1,6946 * \text{VO}_2),$$

onde VO_2 e VCO_2 expressos em l/min.

Foi utilizado um sistema de circuito aberto para análise de gases da marca Parvo Medics, modelo True Max 2400. Antes de cada teste o equipamento foi calibrado com uma seringa de 3 litros para o analisador de fluxo e com gás padrão (16% de O_2 e 4% de CO_2) para os analisadores de O_2 e CO_2 .

3.2.4 Balanço de substrato em repouso

O balanço de substrato de repouso foi mensurado com o avaliado deitado por 30 min onde foi feita a coleta de gases. Para efeito de cálculo foi utilizada a média dos 10 últimos minutos.

3.2.5 Determinação da intensidade de exercício com taxa máxima de oxidação de gorduras (Fat max), Crossover point e consumo máximo de oxigênio ($\text{VO}_{2\text{máx}}$).

Para a mensuração do Fat max e $\text{VO}_{2\text{máx}}$ foi utilizada uma modificação do protocolo proposto por Achten *et al.* (2003).

O teste foi realizado em esteira (Reebok, modelo X-Fit 7) e iniciou a 5 km/h com inclinação de 1% e a inclinação foi aumentada em 2% a cada 3 minutos até se alcançar um quociente respiratório de 1,0. O protocolo original, desenvolvido para atletas, utiliza uma velocidade de 7,5 km/h. No presente estudo a velocidade foi reduzida para 5 km/h por se tratarem de pessoas sedentárias.

O consumo de lipídeos e carboidratos foi calculado pela média das mensurações de VO_2 e VCO_2 dos últimos 2 minutos de cada estágio e plotados em relação ao percentual do consumo máximo de oxigênio.

A intensidade onde foi observado o maior consumo absoluto de gorduras foi considerada a intensidade do Fat max.

Após atingido o quociente respiratório de 1,0 os sujeitos começaram a correr a 8 km/h com 6% de inclinação e a velocidade foi aumentada em 1 km/h a cada minuto até a exaustão para se determinar o VO_2 máx.

Para se avaliar o consumo máximo de oxigênio foram utilizados os critérios propostos por (HOWLEY *et al.*, 1995): quociente respiratório maior que 1,0, atingir a frequência cardíaca máxima estimada para a idade ($220 - \text{idade}$) e aumento de VO_2 não superior a 150 ml entre as ultimas mensurações.

Simultaneamente foi mensurada a frequência cardíaca de cada participante durante todo o teste com um frequencímetro da marca Polar, modelo S610.

Para a determinação do Crossover point a contribuição relativa (em %) de carboidratos e gorduras durante o protocolo de exercício foram plotados em relação à intensidade do exercício. Foi considerado o Crossover point a intensidade onde a contribuição de gorduras e carboidratos mostrou-se idêntica (50%).

3.2.6 Exames laboratoriais

As análises bioquímicas foram realizadas no Serviço de Análises Clínicas no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.

As amostras de sangue foram obtidas através de coleta à vácuo, na veia antecubital de cada participante e separadas em dois tubos: um contendo fluoreto para a análise de glicose e outro contendo gel separador para a análise de insulina.

Determinação da glicemia – A concentração de glicose circulante foi analisada pelo método Glicose Hexocinase II (GLUT H II) através do Kit Glicose Hexocinase II e reativos ADVIA 1650 (Bayer).

A glicose é fosforilada com adenosina trifostato (ATP) na presença de hexocinase. A gli-6-fosfato que se forma oxida na presença a glicose-6-fosfato desidrogenase, causando a redução do NAD a NADH. A leitura da absorbância do NADH é media a 340 nm como redução de ponto final.

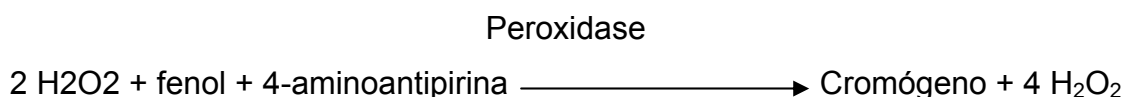
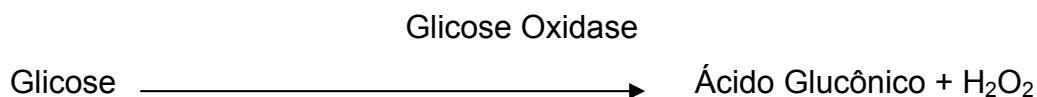
Amostra: plasma fluoretado

Equipamento: ADVIA 1650 e MEGA

Calibrador: Set point (Bayer) reconstituído com 3 ml de água destilada e após, separação de alíquotas de 300 µl.

Controles Test point 1 e 2 (Bayer) reconstituído com 10 ml de diluente do Kit, e após, separação de alíquotas de 500 µl.

A glicose presente na amostra foi dosada de acordo com a reação:



A intensidade de cor emitida é diretamente proporcional à quantidade de glicose na amostra de soro. A concentração de glicose foi expressa em mg/dl, calculada pela fórmula:

$$[\text{GLICOSE}] = \frac{\text{D.O amostra}}{\text{D.O padrão}} \times n$$

[GLICOSE]= concentração de glicose na amostra

D.O= Densidade ótica

N= Concentração do padrão (100mg/100ml)

- Determinação da Insulina – A insulina foi determinada pelo método imunoensaio Imunométrico, através do equipamento IMMULITE 2000, onde os reagentes necessários para a reação de quimiluminiscência se encontram acondicionados sob refrigeração no interior do equipamento permanentemente.

O sistema IMMUNITE 2000 utiliza esferas de poliestireno revestidas com uma camada de anticorpo. Uma esfera revestida é dispensada em um tubo de reação, o qual serve de recipiente para os processos de incubação, lavagem e desenvolvimento do sinal. Após a amostra ser incubada com o conjugado de

Fosfatase alcalina, a mistura é separada da esfera revestida pelo movimento de rotação do tubo de reação, o qual atinge grandes velocidades sobre seu eixo vertical.

O fluido é transferido para uma câmara de lavagem, que constitui parte integrante da estação de lavagem das esferas revestidas e tubos. Num intervalo de segundos ocorrem 4 lavagens da pérola, a qual fica desprovida de qualquer fração não ligada. A fração ligada é então quantificada utilizando um substrato de dioxetano para produzir luz. A luz é emitida quando o substrato quimiluminescente reage com a fração de fosfatase alcalina ligada à esfera revestida. A quantidade de luz emitida é proporcional à quantidade do analito na amostra. A emissão de luz é detectada pelo tubo fotomultiplicador (PMT) e os resultados são calculados utilizando-se uma curva padrão.

Amostra: Tubo com gel separador.

Equipamentos: Centrífuga e Analisador IMMULITE 2000.

Calibradores: Kit com dois frascos, cada um com insulina liofilizada. Adição de 4 ml de água destilada e aguardo de total dissolução.

Controle: Foram utilizados os dois níveis de controle de insulina que acompanham o Kit (DPC-Medlab). Após a reconstituição de cada nível com 4 ml de água destilada, aguarda-se 30 minutos (homogeneização e alíquota).

3.3 Planejamento da Pesquisa e Análise estatística

A pesquisa é designada como causal-comparativa. Os dados são reportados como média e desvio padrão. A normalidade dos dados foi analisada pelo teste de Shapiro-Willks e homogeneidade pelo teste de Bartlett.

Devido ao fato do pressuposto de normalidade não ter sido atendido, optou-se por uma análise não-paramétrica. Para todas as comparações entre os grupos ($>RI$ e $<RI$) foi utilizado o teste de MANN-WHITNEY e para testar a relação entre a resistência à insulina e a utilização de lipídeos e carboidratos em repouso e exercício foi utilizado o teste de correlação de Spearman.

Para todas as análises foi estabelecido o nível de significância de $p < 0,05$.

Foi utilizado, para as análises, o software Statistica 6.0. Para a construção dos gráficos utilizou-se o software GraphPad Prism 4.0.

4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para analisar a influência da resistência à insulina na utilização de carboidratos e lipídeos durante o repouso e exercício foi necessário que os grupos apresentassem diferença significativa em relação ao grau de resistência à insulina (HOMA-IR). Para isso foram recrutados indivíduos filhos de diabéticos, baseado nas observações de Straczkowski *et al.* (2003) que filhos de portadores de diabetes tipo 2 apresentam um maior grau de resistência à insulina que indivíduos sem histórico de diabetes familiar. Porém ao se dividir os grupos por esse critério, não se observou diferença significativa ($p=0,699$). Então, optou-se por distribuir os grupos diretamente pelo grau de resistência à insulina, com os 6 indivíduos com menor índice HOMA-IR no grupo <RI e os 6 indivíduos com maior HOMA-IR no grupo >RI.

4.1 Características dos Sujeitos

A tabela 2 mostra as características antropométricas e de composição corporal dos sujeitos do estudo. Não foram observadas diferenças significativas em relação idade, massa corporal, estatura, IMC, %G e MCM entre os grupos >RI e <RI.

Tabela 2 – Variáveis antropométricas e de composição corporal dos sujeitos do estudo

Variável	>RI (n=6)	<RI (n=6)	P
Idade	24,10±2,61	22,85±1,98	0,240
Massa Corporal, kg	69,25±10,40	70,35±7,69	0,937
Estatura, cm	175,48±6,84	176,03±7,23	0,937
IMC, kg/cm²	22,38±2,20	22,64±0,96	0,818
%G	11,37±3,31	12,23±2,84	0,588
MCM, kg	64,47±6,33	61,67±6,11	0,588

Em relação ao IMC todos os sujeitos encontram-se classificados como “eutróficos” de acordo com a tabela da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2000). Este foi um importante fator de controle no presente estudo, já que o excesso

de gordura corporal, por si só, pode influenciar na utilização de gordura e carboidratos (BRAUN *et al.*, 2004).

Com relação ao consumo máximo de oxigênio (VO_2 máx), não foi observada diferença significativa tanto no consumo relativo (ml/kg/min) como no absoluto (L/min), mostrando que ambos os grupos encontravam-se com níveis de aptidão cardiorrespiratória semelhantes (Tabela 3). Este foi outro importante fator de controle, já que o nível aptidão pode influenciar o consumo de substratos (BROOKS e MERCIER, 1994).

Tabela 3– Consumo máximo de oxigênio e FC máx dos sujeitos do estudo

Variável	>RI (n=6)	<RI (n=6)	P
VO_2 máx, L/min	3,53±0,86	3,34±0,29	1,000
VO_2 máx, ml/kg/min	50,54±5,59	47,76±3,20	0,588
FC máx, bpm	194,33±4,80	197,16±4,40	0,240

O grupo >RI apresentou uma concentração de insulina significativamente maior que o grupo <RI, o que refletiu em um nível de resistência à insulina significativamente maior (Tabela 4 e Gráfico 1). Este resultado já era esperado, já que os grupos foram divididos de acordo com o nível de resistência à insulina.

Tabela 4– Variáveis bioquímicas e resistência à insulina (HOMA-IR) dos sujeitos do estudo

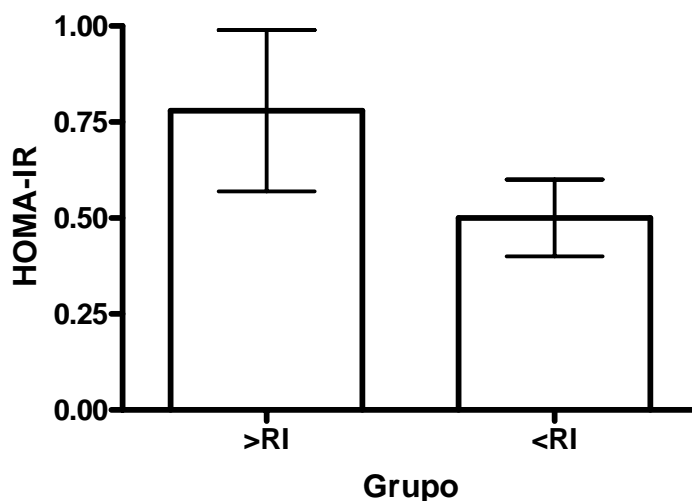
Variável	>RI (n=6)	<RI (n=6)	P
Insulina, $\mu\text{U/ml}$	5,90±1,67	3,75±0,74	0,004*
Glicose, mg/dl	97,83±5,60	93,00±3,74	0,093
HOMA-IR	0,78±0,21	0,50±0,10	0,004*

*p<0,05

Não foram observadas diferenças em relação às concentrações de glicose, demonstrando que os dois grupos mostraram tolerância à glicose semelhante, diferindo apenas com relação à resistência à insulina. Ainda, com relação à glicemia,

todos os participantes apresentaram concentrações dentro do normal (>110) de acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes (2003).

Gráfico 1– Resistência à insulina (HOMA-IR) dos grupos $>RI$ e $<RI$



* $p < 0,05$

4.2 Utilização de carboidratos e lipídeos durante o repouso e exercício

A tabela 3 mostra os resultados relativos às análises em repouso. Não foram observadas diferenças significativas na oxidação total de lipídeos e carboidratos (Gráfico 2).

Tabela 5–Consumo de oxigênio e utilização de substrato em repouso.

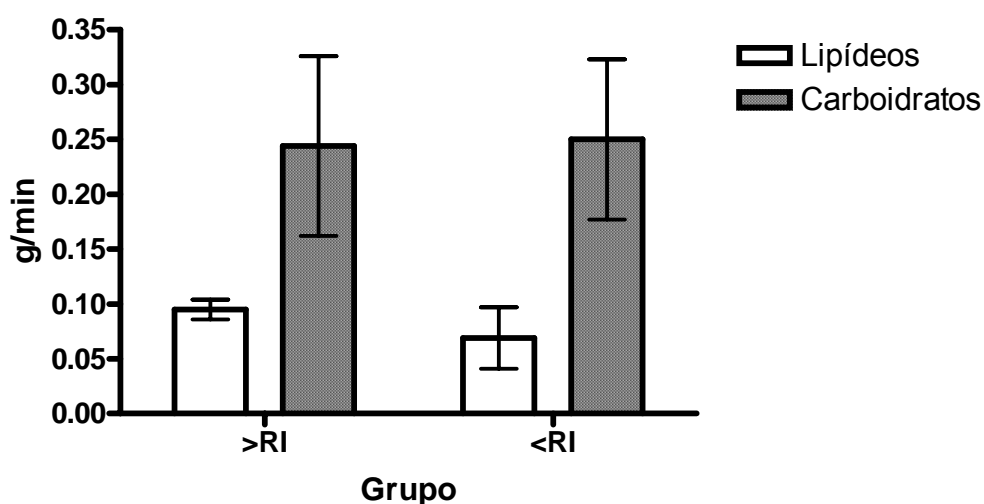
Variável	$>RI$	$<RI$	P
Lipídeos, g/min	0,095±0,009	0,069±0,028	0,064
Carboidratos, g/min	0,244±0,082	0,250±0,073	0,699

Outros autores também não observaram alterações na oxidação total de lipídeos e carboidratos: em diabéticos tipo 2 obesos comparados com não-diabéticos obesos (BLAAK *et al.*, 2000); diabéticos tipo 2 não-obesos comparados com não-diabéticos (BORGHOUTS *et al.*, 2002); sujeitos obesos com tolerância à glicose

diminuída comparados com diabéticos tipo 2 obesos e com sujeitos obesos com glicemia normal (MENSINK *et al.*, 2001); e em sujeitos obesos comparados com não-obesos (COLBERG *et al.*, 1995; GOODPASTER *et al.*, 2002)

Porém, alguns destes estudos que utilizaram isótopos estáveis de palmitato, demonstraram redução na oxidação de ácidos graxos plasmáticos em sujeitos diabéticos tipo 2 obesos (BLAAK *et al.*, 2000) e obesos não diabéticos. Neste último foi observada uma correlação negativa entre a taxa de oxidação de ácidos graxos plasmáticos e obesidade central, a qual se correlacionou com a resistência à insulina. Porém, não se sabe ao certo se essa redução da oxidação de ácidos graxos observada nos dois estudos é uma causa ou efeito da resistência à insulina. Ou ainda, se ambos são influenciados pelo aumento de gordura corporal. Existem evidências que tais distúrbios no metabolismo de gorduras relacionado à resistência à insulina não são efeito do aumento de gordura corporal. Estudos mostraram uma associação entre o conteúdo de triglicerídeos intramiocelulares e resistência à insulina mesmo em indivíduos com peso normal (KRSSAK *et al.*, 1999; PERSEGHIN *et al.*, 1999). Segundo Kelley e Mandarino (2000) é possível que a redução na oxidação observada nesses estudos esteja associada a um aumento da concentração de malonyl-CoA, um inibidor da atividade do complexo CPT, embora essa relação tenha sido demonstrada somente em modelos animais.

Gráfico 2- Consumo de lipídeos e carboidratos durante o repouso



No presente estudo, não foi possível mensurar a contribuição das diferentes fontes de gorduras para a oxidação total. Contudo, é possível que como em estudos previamente publicados, o grupo RI tenha demonstrado redução na oxidação de AG plasmáticos.

Os resultados das variáveis analisadas durante o exercício são mostrados na tabela 4.

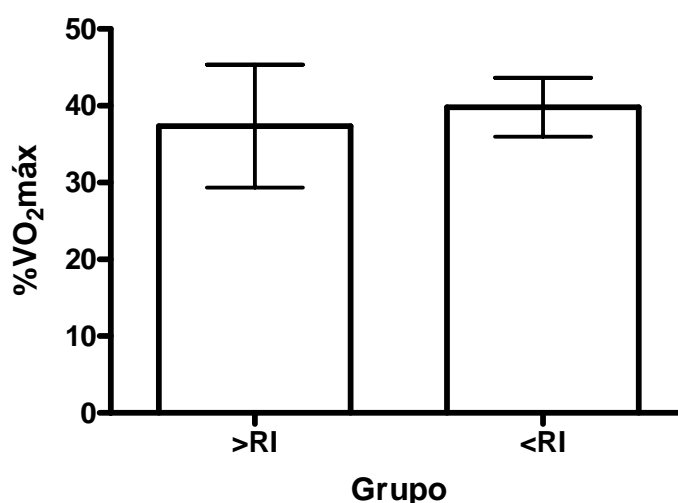
No presente estudo levantou-se a hipótese que os distúrbios no metabolismo energético associados à resistência à insulina poderiam influenciar a intensidade de exercício onde se observa o maior consumo de gorduras (Fat max) e a intensidade onde a energia derivada de carboidratos passa a predominar sobre a derivada das gorduras (Crossover point) e também na quantidade total de carboidratos e lipídeos utilizados na intensidade correspondente ao Fat máx. Perez-Martin *et al* (2001) demonstraram que indivíduos obesos apresentaram o Crossover point e Fat max em intensidades significativamente menores que em indivíduos não-obesos. Os autores argumentaram que tais alterações poderiam ter ocorrido por diversos fatores como: IMC, quantidade absoluta de gordura, distribuição de gordura, quantidade de gordura visceral, dieta, nível de atividade física e sensibilidade à insulina. No presente estudo, os grupos foram similares em relação à composição corporal e nível de atividade física, diferindo apenas no grau de resistência à insulina e não foram observadas diferenças em relação ao Fat max e Crossoverpoint (Gráfico 3). É provável que as alterações observadas no estudo citado tenham ocorrido devido à outras variáveis que não a resistência à insulina, principalmente às diferenças na quantidade de gordura corporal.

Tabela 6- Fat max, consumo de lipídeos e carboidratos na intensidade do Fat max e *crossoverpoint*.

Variável	>RI	<RI	P
Fat max, %VO₂máx	37,35±7,99	39,81±3,84	0,818
Lipídeos, g/min	0,379±0,087	0,230±0,076	0,484
Carboidratos, g/min	0,689±0,229	0,876±0,222	0,240
Crossoverpoint, %VO₂máx	40,08±7,19	40,67±5,12	0,818

O Fat max ocorreu, em ambos os grupos, em intensidades mais baixas do que a relatada no estudo de ACHTEN *et al.*(2003). Neste estudo os autores observaram que o Fat max em ciclistas e corredores ocorreu numa intensidade de $659,2 \pm 2,8\%$ do $\text{VO}_2\text{máx}$. Além disso, a utilização absoluta de lipídeos também foi menor que no estudo citado ($0,65 \pm 0,05$ g/min). A taxa de oxidação de lipídeos foi maior que no presente estudo provavelmente porque a amostra foi composta por atletas e o nível de treinamento influencia tais parâmetros (BROOKS e MERCIER, 1994).

Gráfico 3— Fat max dos grupos >RI e <RI

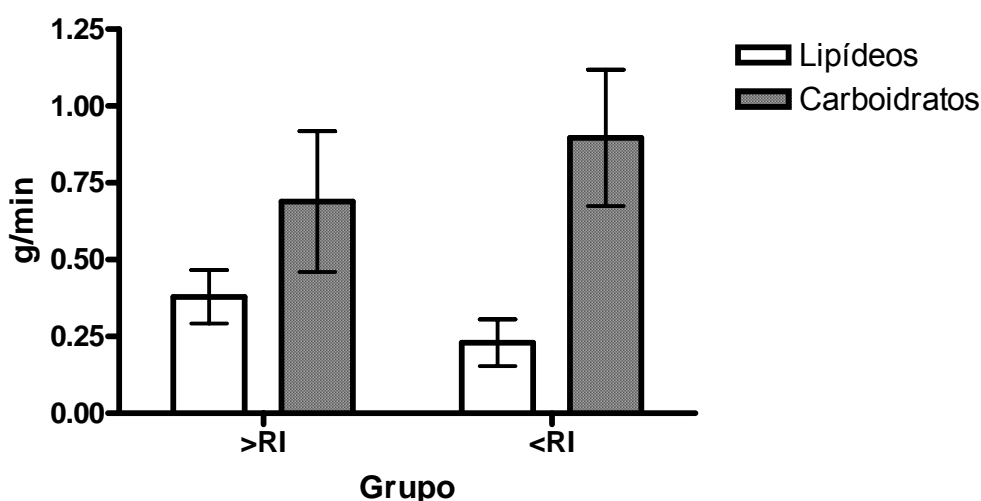


Não foram observadas diferenças significativas em relação à oxidação total de lipídeos e carboidratos na intensidade correspondente ao Fat max (Gráfico 4). Além disso, não se observou uma correlação significativa entre a resistência à insulina e a oxidação total de lipídeos e carboidratos e repouso (Gráfico 5A e B) e exercício (Gráfico 5C e D).

Goodpaster *et al.*(2002) estudaram o efeito da obesidade no balanço de substrato durante o exercício comparando sujeitos obesos com um grupo controle formado por não-obesos. Os sujeitos obesos demonstraram uma maior oxidação total de gorduras e menor oxidação total de carboidratos (devido a menor utilização

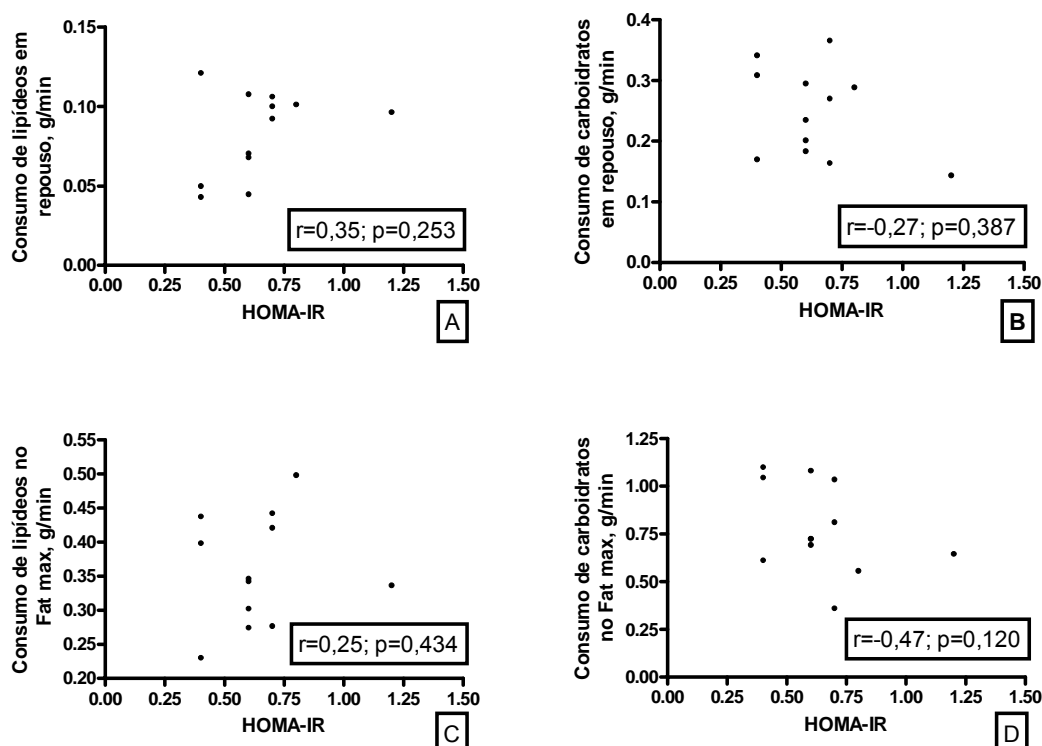
de glicogênio). Os autores citaram como possíveis causas uma quantidade menor de glicogênio muscular e maior oxidação de triglicerídeos intramiocelulares dos indivíduos obesos. Neste estudo os indivíduos obesos provavelmente eram mais resistentes à insulina, já apresentaram concentrações de insulina 3 vezes maiores que no grupo controle. Assim, além da quantidade de gordura corporal os indivíduos provavelmente diferiam também com relação à resistência à insulina e as alterações observadas no balanço de substrato poderiam estar associadas à resistência à insulina e não à obesidade.

Gráfico 4- Consumo de lipídeos e carboidratos na intensidade do Fat max



Em outro estudo Blaak *et al.*(2000) verificaram a oxidação de substratos utilizando calorimetria indireta e infusão de isótopos de palmitato durante o exercício (60 min. em cicloergômetro à 50% do $\text{VO}_2\text{máx}$) em diabéticos do tipo 2 obesos e em um grupo controle de obesos não diabéticos. Não houveram diferenças significativas na oxidação total de gorduras e carboidratos durante o repouso e exercício. O grupo formado por diabéticos apresentou uma oxidação significativamente menor de ácidos graxos plasmáticos e maior de ácidos graxos derivados de triglicerídeos, possivelmente devido à maior concentração de triglicerídeos intramiocelulares. Neste estudo não foi mensurada a contribuição das diferentes fontes de carboidratos.

Gráfico 5 – Correlação entre a resistência à insulina e o consumo de substratos em repouso e no Fat max



Para eliminar a possível influência da obesidade Borghouts *et al.*(2002) estudaram diabéticos do tipo 2 não obesos. Os portadores de DM2 apresentaram uma taxa de oxidação de glicogênio significativamente menor e oxidação de glicose sanguínea maior que o grupo controle durante o exercício (60 min. em cicloergômetro à 40% do VO_2 máx). Em relação à taxa total de oxidação de gorduras e carboidratos não houve diferenças significativas.

É importante ressaltar que nos dois últimos estudos citados os sujeitos eram portadores de DM2, portanto, hiperglicêmicos e o movimento da glicose do sangue para os tecidos pode ter sido facilitada pela ação de massa (BRAUN *et al.*, 2004).

Com o objetivo de estudar possíveis alterações na utilização de substrato devido à resistência à insulina, sem a influência da hiperglicemia e diferenças na composição corporal Braun *et al.* (2004) estudaram mulheres resistentes à insulina, porém com glicemia normal, com sobrepeso e obesas durante 50 minutos de caminhada em esteira à 45% do VO_2 máx. Foi observada uma redução significativa

na utilização total de carboidratos no grupo de resistentes à insulina. Diante desses resultados os autores argumentaram que alterações no balanço de substrato podem se atribuídas à resistência à insulina e não à presença de excesso de gordura. Dentre as possíveis explicações os autores ressaltaram a possibilidade do grupo resistente à insulina possuir uma concentração mais elevada de triglicerídeos intramiocelulares, assim a utilização de carboidratos poderia ter sido reduzida pela maior disponibilidade de gorduras.

No presente estudo o possível o efeito da obesidade e da hiperglicemia também foram controlados, porém não se observaram diferenças significativas. Uma possível explicação é que, no estudo de Braun *et al.* (2004) as diferenças de resistência à insulina entre os grupos foram mais marcantes que no presente estudo, já que os autores incluíram na amostra (utilizando o índice de sensibilidade à insulina) sujeitos com índice <4 (resistentes à insulina) e >7 (sensíveis à insulina), eliminando os indivíduos que apresentaram valores intermediários. No presente estudo foram incluídos na amostra indivíduos com uma faixa menor de resistência à insulina.

Além disso, não foram incluídos no presente estudo sujeitos realmente resistentes à insulina. Stern *et al.* (2005) propuseram um ponto de corte para se classificar a resistência à insulina baseados no HOMA-IR de $>4,65$. Mesmo no grupo RI o maior valor de HOMA-IR foi de 1,2, ainda bem abaixo do ponto de corte.

Observa-se, portanto que existem fortes evidências que as alterações no balanço de substrato observadas em relação à resistência à insulina possam estar ligadas a um acúmulo de triglicerídeos intramiocelulares observados em sujeitos resistentes à insulina.

É possível que na amostra do presente estudo as diferenças em relação aos níveis de triglicerídeos intramiocelulares não tenham sido marcantes ao ponto de refletir em alterações significativas no balanço de substrato.

5.0 CONCLUSÃO

Diante dos resultados pode-se concluir que na amostra estudada:

- Não houve diferença significativa na utilização de gorduras e carboidratos entre sujeitos com maior resistência à insulina ($>RI$) e sujeitos com menor resistência à insulina ($<RI$) em repouso.
- Não houve diferença significativa nas intensidades correspondentes ao ponto de cruzamento entre as fontes energéticas (Crossover point) e à taxa máxima de oxidação de gorduras (Fat max) entre os grupos $>RI$ e $<RI$.
- Não houve diferença significativa na utilização de gorduras e carboidratos na intensidade correspondente ao Fat max entre os grupos $>RI$ e $<RI$.

REFERÊNCIAS

- ACHTEN, J., GLEESON, M. e JEUKENDRUP, A. E. Determination of the exercise intensity that elicits maximal fat oxidation. **Med Sci Sports Exerc**, v.34, n.1, Jan, p.92-7. 2002.
- ACHTEN, J. e JEUKENDRUP, A. E. Relation between plasma lactate concentration and fat oxidation rates over a wide range of exercise intensities. **Int J Sports Med**, v.25, n.1, Jan, p.32-7. 2004.
- ACHTEN, J., VENABLES, M. C. e JEUKENDRUP, A. E. Fat oxidation rates are higher during running compared with cycling over a wide range of intensities. **Metabolism**, v.52, n.6, Jun, p.747-52. 2003.
- AMERICAN_DIABETES_ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v.27 Suppl 1, Jan, p.S5-S10. 2004.
- BLAAK, E. E., VAN AGGEL-LEIJSSSEN, D. P., WAGENMAKERS, A. J., SARIS, W. H. e VAN BAAK, M. A. Impaired oxidation of plasma-derived fatty acids in type 2 diabetic subjects during moderate-intensity exercise. **Diabetes**, v.49, n.12, Dec, p.2102-7. 2000.
- BORGHOUTS, L. B., WAGENMAKERS, A. J., GOYENS, P. L. e KEIZER, H. A. Substrate utilization in non-obese Type II diabetic patients at rest and during exercise. **Clin Sci (Lond)**, v.103, n.6, Dec, p.559-66. 2002.
- BRAUN, B., SHAROFF, C., CHIPKIN, S. R. e BEAUDOIN, F. Effects of insulin resistance on substrate utilization during exercise in overweight women. **J Appl Physiol**, v.97, n.3, Sep, p.991-7. 2004.
- BROOKS, G. A. e MERCIER, J. Balance of carbohydrate and lipid utilization during exercise: the "crossover" concept. **J Appl Physiol**, v.76, n.6, Jun, p.2253-61. 1994.
- CARVALHEIRA, J. B. C., ZECCHIN, H. G. e SAAD, M. J. A. Vias de sinalização da insulina. **Arq, Bras. Endocrinol Metab**, v.46, n.4, p.419-425. 2002.
- CEFALU, W. T. Insulin resistance: cellular and clinical concepts. **Exp Biol Med (Maywood)**, v.226, n.1, Jan, p.13-26. 2001.
- CHEATHAM, B. e KAHN, C. R. Insulin action and the insulin signaling network. **Endocr Rev**, v.16, n.2, Apr, p.117-42. 1995.
- COLBERG, S. R., SIMONEAU, J. A., THAETE, F. L. e KELLEY, D. E. Skeletal muscle utilization of free fatty acids in women with visceral obesity. **J Clin Invest**, v.95, n.4, Apr, p.1846-53. 1995.

CZECH, M. P. e CORVERA, S. Signaling mechanisms that regulate glucose transport. **J Biol Chem**, v.274, n.4, Jan 22, p.1865-8. 1999.

DOUEN, A. G., RAMLAL, T., RASTOGI, S., BILAN, P. J., CARTEE, G. D., VRANIC, M., HOLLOSZY, J. O. e KLIP, A. Exercise induces recruitment of the "insulin-responsive glucose transporter". Evidence for distinct intracellular insulin- and exercise-recruitable transporter pools in skeletal muscle. **J Biol Chem**, v.265, n.23, Aug 15, p.13427-30. 1990.

DRESNER, A., LAURENT, D., MARCUCCI, M., GRIFFIN, M. E., DUFOUR, S., CLINE, G. W., SLEZAK, L. A., ANDERSEN, D. K., HUNDAL, R. S., ROTHMAN, D. L., PETERSEN, K. F. e SHULMAN, G. I. Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity. **J Clin Invest**, v.103, n.2, Jan, p.253-9. 1999.

FRAYN, K. N. Regulation of fatty acid delivery in vivo. In: E. A. Richter, B. Kiens, H. Galbo e B. Saltin (Ed.). *Skeletal muscle metabolism in exercise and diabetes*. New York: Plenum Press, 1998.

GOODPASTER, B. H., WOLFE, R. R. e KELLEY, D. E. Effects of obesity on substrate utilization during exercise. **Obes Res**, v.10, n.7, Jul, p.575-84. 2002.

GOODYEAR, L. J., GIORGINO, F., BALON, T. W., CONDORELLI, G. e SMITH, R. J. Effects of contractile activity on tyrosine phosphoproteins and PI 3-kinase activity in rat skeletal muscle. **Am J Physiol**, v.268, n.5 Pt 1, May, p.E987-95. 1995.

GORDON, C. C., CHUMLEA, W. C. e ROCHE, A. F. Stature, recumbent length, and weight. In: T. G. Lohman, A. F. Roche e R. Martorell (Ed.). *Anthropometric standardization reference manual*. Champaign: Human Kinetics, 1988.

GROSS, J. L. e NEHME, M. Detecção e tratamento das complicações crônicas do diabetes melito: consenso da sociedade brasileira de diabetes e conselho brasileiro de oftalmologia. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.45, n.3, p.279-284. 1999.

GROSS, J. L., SILVEIRO, S. P., CAMARGO, J. L., REICHELT, A. J. e AZEVEDO, M. J. Diabetes melito: diagnóstico, classificação e avaliação do controle glicêmico. **Arq, Bras. Endocrinol Metab**, v.46, p.16-26. 2002.

HARGREAVES, M. Skeletal muscle carbohydrate metabolism during exercise. In: M. Hargreaves (Ed.). *Exercise metabolism*. Champaign: Human Kinetics, 1995.

HARRISON, G. H., BUSKIRK, E. R., CARTER, J. E. L., JOHNSTON, F. E., LOHMAN, T. G., POLLOCK, M. L., ROCHE, A. F. e WILMORE, J. Skinfold thicknesses and measurement technique. In: T. G. Lohman, A. F. Roche e R. Martorell (Ed.). *Anthropometric standardization reference manual*. Champaign: Human Kinetics, 1988.

HEGARTY, B. D., FURLER, S. M., YE, J., COONEY, G. J. e KRAEGEN, E. W. The role of intramuscular lipid in insulin resistance. **Acta Physiol Scand**, v.178, n.4, Aug, p.373-83. 2003.

HOLM, C., OSTERLUND, T., LAURELL, H. e CONTRERAS, J. A. Molecular mechanisms regulating hormone-sensitive lipase and lipolysis. **Annu Rev Nutr**, v.20, p.365-93. 2000.

HOROWITZ, J. F. e KLEIN, S. Lipid metabolism during endurance exercise. **Am J Clin Nutr**, v.72, n.2 Suppl, Aug, p.558S-63S. 2000.

HOWLEY, E. T., BASSETT, D. R., JR. e WELCH, H. G. Criteria for maximal oxygen uptake: review and commentary. **Med Sci Sports Exerc**, v.27, n.9, Sep, p.1292-301. 1995.

HUNTER, S. J. e GARVEY, W. T. Insulin action and insulin resistance: diseases involving defects in insulin receptors, signal transduction, and the glucose transport effector system. **Am J Med**, v.105, n.4, Oct, p.331-45. 1998.

JACKSON, A. S. e POLLOCK, M. L. Generalized equations for predicting body density of men. **Br J Nutr**, v.40, n.3, Nov, p.497-504. 1978.

JESSEN, N. e GOODYEAR, L. J. Contraction signaling to glucose transport in skeletal muscle. **J Appl Physiol**, v.99, n.1, July 1, 2005, p.330-337. 2005.

JEUKENDRUP, A. E. Regulation of fat metabolism in skeletal muscle. **Ann N Y Acad Sci**, v.967, Jun, p.217-35. 2002.

JEUKENDRUP, A. E., SARIS, W. H. e WAGENMAKERS, A. J. Fat metabolism during exercise: a review. Part I: fatty acid mobilization and muscle metabolism. **Int J Sports Med**, v.19, n.4, May, p.231-44. 1998.

KELLEY, D. E. e MANDARINO, L. J. Fuel selection in human skeletal muscle in insulin resistance: a reexamination. **Diabetes**, v.49, n.5, May, p.677-83. 2000.

KENNEDY, J. W., HIRSHMAN, M. F., GERVINO, E. V., OCEL, J. V., FORSE, R. A., HOENIG, S. J., ARONSON, D., GOODYEAR, L. J. e HORTON, E. S. Acute exercise induces GLUT4 translocation in skeletal muscle of normal human subjects and subjects with type 2 diabetes. **Diabetes**, v.48, n.5, May, p.1192-7. 1999.

KRSSAK, M., FALK PETERSEN, K., DRESNER, A., DIPIETRO, L., VOGEL, S. M., ROTHMAN, D. L., RODEN, M. e SHULMAN, G. I. Intramyocellular lipid concentrations are correlated with insulin sensitivity in humans: a ¹H NMR spectroscopy study. **Diabetologia**, v.42, n.1, Jan, p.113-6. 1999.

LIMA, F. B., VESTRI, H. S., VESTRI, S. e MORAES, S. M. F. D. Lipólise. In: R. Curi, C. Pompéia, C. K. Miyasaka e J. Procopio (Ed.). Entendendo a gordura. Os ácidos graxos. Barueri: Manole, 2002.

MALERBI, D. A. e FRANCO, L. J. Multicenter study of the prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the urban Brazilian population aged 30-69 yr. The Brazilian Cooperative Group on the Study of Diabetes Prevalence. **Diabetes Care**, v.15, n.11, Nov, p.1509-16. 1992.

MAUGHAN, R., GLEESON, M. e GREENHAFF, P. L. **Bioquímica do exercício e do treinamento**. São Paulo: Manole. 2000.

MCGARRY, J. D. Banting lecture 2001: dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes. **Diabetes**, v.51, n.1, Jan, p.7-18. 2002.

MELO, K. F. S. D., GIANNELLA, M. L. C. C., SOUZA, J. J. S. D., FIDELIX, M. S. P., NERY, M. e GIANNELLA-NETO, D. Especial condutas: diabetes mellitus. **Revista Brasileira de Medicina**, v.60, n.7, p.505-515. 2003.

MENSINK, M., BLAAK, E. E., VAN BAAK, M. A., WAGENMAKERS, A. J. e SARIS, W. H. Plasma free Fatty Acid uptake and oxidation are already diminished in subjects at high risk for developing type 2 diabetes. **Diabetes**, v.50, n.11, Nov, p.2548-54. 2001.

PEREZ-MARTIN, A., DUMORTIER, M., RAYNAUD, E., BRUN, J. F., FEDOU, C., BRINGER, J. e MERCIER, J. Balance of substrate oxidation during submaximal exercise in lean and obese people. **Diabetes Metab**, v.27, n.4 Pt 1, Sep, p.466-74. 2001.

PERONNET, F. e MASSICOTTE, D. Table of nonprotein respiratory quotient: an update. **Can J Sport Sci**, v.16, n.1, Mar, p.23-9. 1991.

PERSEGHIN, G., SCIFO, P., DE COBELLI, F., PAGLIATO, E., BATTEZZATI, A., ARCELLONI, C., VANZULLI, A., TESTOLIN, G., POZZA, G., DEL MASCHIO, A. e LUZI, L. Intramyocellular triglyceride content is a determinant of in vivo insulin resistance in humans: a ¹H-¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy assessment in offspring of type 2 diabetic parents. **Diabetes**, v.48, n.8, Aug, p.1600-6. 1999.

PESSIN, J. E. e SALTIEL, A. R. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. **J Clin Invest**, v.106, n.2, Jul, p.165-9. 2000.

PLOUG, T., GALBO, H. e RICHTER, E. A. Increased muscle glucose uptake during contractions: no need for insulin. **Am J Physiol**, v.247, n.6 Pt 1, Dec, p.E726-31. 1984.

POWERS, S. K. e HOWLEY, E. T. **Fisiologia do exercício: Teoria e aplicação ao condicionamento e ao desempenho**. Barueri: Manole. 2000.

REAVEN, G. M. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. **Diabetes**, v.37, n.12, Dec, p.1595-607. 1988.

RODEN, M., PRICE, T. B., PERSEGHIN, G., PETERSEN, K. F., ROTHMAN, D. L., CLINE, G. W. e SHULMAN, G. I. Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans. **J Clin Invest**, v.97, n.12, Jun 15, p.2859-65. 1996.

SHEPHERD, P. R. e KAHN, B. B. Glucose Transporters and Insulin Action -- Implications for Insulin Resistance and Diabetes Mellitus. **N Engl J Med**, v.341, n.4, July 22, 1999, p.248-257. 1999.

SHULMAN, G. I. Cellular mechanisms of insulin resistance. **J Clin Invest**, v.106, n.2, Jul, p.171-6. 2000.

SIRI, W. E. Body composition from fluid space and density. In: J. Brozek e A. Hanschel (Ed.). Techniques for measuring body composition. Washington: National Academy of Science, 1961.

SOCIEDADE_BRASILEIRA_DE_DIABETES. **Consenso brasileiro obre diabetes 2002: Diagnóstico e medicação do diabetes melito e tratamento do diabetes melito tipo 2**. Rio de Janeiro: Diagraphic. 2003.

SPRIET, L. L. Regulation of skeletal muscle fat oxidation during exercise in humans. **Med Sci Sports Exerc**, v.34, n.9, Sep, p.1477-84. 2002.

STANLEY, W. C. e CONNETT, R. J. Regulation of muscle carbohydrate metabolism during exercise. **Faseb J**, v.5, n.8, May, p.2155-9. 1991.

STERN, S. E., WILLIAMS, K., FERRANNINI, E., DEFRONZO, R. A., BOGARDUS, C. e STERN, M. P. Identification of Individuals With Insulin Resistance Using Routine Clinical Measurements. **Diabetes**, v.54, n.2, February 1, 2005, p.333-339. 2005.

STRACZKOWSKI, M., KOWALSKA, I., STEPIEN, A., DZIENIS-STRACZKOWSKA, S., SZELACHOWSKA, M., KINALSKA, I., KRUKOWSKA, A. e KONICKA, M. Insulin resistance in the first-degree relatives of persons with type 2 diabetes. **Med Sci Monit**, v.9, n.5, May, p.CR186-90. 2003.

US DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. Physical Activity and Health: A Report of the Surgeon General. **US Dept of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion**. 1996.

VIRKAMAKI, A., KORSHENINNIKOVA, E., SEPPALA-LINDROOS, A., VEHKAVAARA, S., GOTO, T., HALAVAARA, J., HAKKINEN, A. M. e YKI-JARVINEN, H. Intramyocellular lipid is associated with resistance to in vivo insulin actions on glucose uptake, antilipolysis, and early insulin signaling pathways in human skeletal muscle. **Diabetes**, v.50, n.10, Oct, p.2337-43. 2001.

WALLACE, T. M., LEVY, J. C. e MATTHEWS, D. R. Use and abuse of HOMA modeling. **Diabetes Care**, v.27, n.6, Jun, p.1487-95. 2004.

WHITE, M. F. e KAHN, C. R. The insulin signaling system. **J Biol Chem**, v.269, n.1, Jan 7, p.1-4. 1994.

WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. **World Health Organ Tech Rep Ser**, v.894, p.i-xii, 1-253. 2000.

WILD, S., ROGLIC, G., GREEN, A., SICREE, R. e KING, H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. **Diabetes Care**, v.27, n.5, May, p.1047-53. 2004.

WILMORE, J. H. e COSTILL, D. L. **Fisiologia do esporte e do exercício**. São Paulo: Manole. 2001.

ZORZANO, A., PALACIN, M. e GUMA, A. Mechanisms regulating GLUT4 glucose transporter expression and glucose transport in skeletal muscle. **Acta Physiol Scand**, v.183, n.1, Jan, p.43-58. 2005.

ANEXOS

ANEXO 1**Anamnese****Data:** ____/____/____**Nome:** _____
____/____/____**Data Nasc.**

Sexo: () Masculino ()

Pratica alguma atividade física atualmente?

() Sim

Quais? _____**A quanto tempo?** _____**Frequência semanal:** () vezes por semana.

() Não

A quanto tempo? _____**Fatores que impedem ou impediam a prática de atividades física:**

() Motivação (vontade de fazer exercícios)

() Tempo disponível

() Trabalho

() Estudo

() Doença

() Lesões

() Outros _____

Histórico Médico: *(Marque nas perguntas que você responde sim)***Tem ou teve recentemente:**

() Tosse matinal crônica ou ocasional?

() Qualquer episódio de tosse com sangue?

() Ansiedade ou depressão crescente?

() Dores de cabeça ou enxaqueca freqüente?

() Articulações doloridas, rígidas ou inchadas?

() Dores nas pernas após andar pequenas distâncias?

() Dores nas costas?

() Problemas renais tais como expulsão de cálculos e ardor freqüentes, força diminuída do jato de urina?

() Doença de próstata? (só p/ homens)

() Quaisquer problemas de estômago, ou intestinos tais como: azias freqüentes, úlceras, constipações ou diarreias?

() Glaucoma ou pressão recente nos olhos?

Antecedentes mórbidos:

- ☐ () Enfarto
- ☐ () Febre reumática
- ☐ () Sopro cardíaco
- ☐ () Doenças vasculares
- ☐ () Artrite
- ☐ () Diabetes
- ☐ () Tonteira ou desmaios
- ☐ () Epilepsia
- ☐ () Acidente cerebral
- ☐ () Difteria
- ☐ () Anemia
- ☐ () Problemas de tireóide
- ☐ () Pneumonia
- ☐ () Bronquite
- ☐ () Asma
- ☐ () Outras doenças pulmonares
- ☐ () Fraturas
- ☐ () Cirurgias
- ☐ () Poliomielite
- ☐ () Problema nervoso ou emocional
- ☐ () Lesões nas costas, braços, pernas e articulações

Data do último exame físico completo? _____

Tomando algum medicamento? ☐ () Sim Qual? _____
☐ () Não

Doenças na família:

- ☐ () Ataque cardíaco abaixo dos 50 anos
- ☐ () Acidente cerebral abaixo dos 50 anos
- ☐ () Hipertensão
- ☐ () Colesterol elevado
- ☐ () Diabetes
- ☐ () Doença cardíaca congênita
- ☐ () Operações cardíacas
- ☐ () Obesidade (20 Kg ou mais acima do peso)

ANEXO 2



Ministério da Educação
Universidade Federal do Paraná
Setor de Ciências da saúde
Departamento de educação Física
Mestrado em Educação Física

TERMO DE CONSENTIMENTO DE PARTICIPAÇÃO

Pesquisadores Responsáveis:

Profª Dra. Maria Gisele dos Santos (41- 3225-4147)
Mdº Fabiano de Macedo Salgueirosa (41- 33357110)

Este é um convite especial para você participar voluntariamente do estudo “INFLUÊNCIA DA RESISTENCIA À INSULINA NO BALANÇO DE SUBSTRATO EM HOMENS”.

Por favor, leia com atenção as informações abaixo antes de dar seu consentimento para participar ou não do estudo. Qualquer dúvida sobre o estudo ou sobre este documento pergunte aos pesquisadores citados acima.

• **OBJETIVOS DO ESTUDO**

A resistência à insulina é um distúrbio que aparece de 10 a 20 anos antes do aparecimento do Diabetes Mellitus do tipo 2, e é mais comumente encontrada em filhos portadores desta doença. Uma característica que tem sido associada a pessoas com resistência à insulina são alterações na utilização de gorduras e carboidratos como fonte de energia. Portanto o objetivo deste estudo é analisar a utilização destas fontes de energia (gorduras e carboidratos) em pessoas do sexo masculino com resistência à insulina. Para isso serão testadas pessoas com pais diabéticos do tipo 2 e pessoas sem histórico de diabetes tipo 2 na família.

• **PROCEDIMENTOS**

Ao participar deste estudo você se comprometerá a participar de duas sessões de exercício realizadas em esteira rolante no CEPEFIS (Centro de Estudos da Performance Física). Estas sessões serão realizadas em dois dias diferentes, ambas após um jejum de 8 a 12 horas.

1ª sessão - Será coletada uma pequena amostra de sangue para a determinação do nível de resistência à insulina, e será realizado o protocolo para a determinação da intensidade de exercício onde existe a maior utilização de gorduras (Fat max) e consumo máximo de oxigênio (VO_2 máx). Esse protocolo de exercício terá uma duração de aproximadamente 15 minutos e será realizado com aumento progressivo na velocidade e na inclinação da esteira, até a exaustão (momento onde não se consegue suportar o exercício). Neste mesmo dia serão realizadas as medidas das

variáveis antropométricas e de composição corporal (peso, altura, percentual de gordura, etc).

2ª Sessão – Nesta sessão será realizado o protocolo de teste para a mensuração da utilização de substrato em repouso e exercício.

Esta sessão de exercício terá uma duração de 45 minutos e será realizada com velocidade e inclinação constantes.

- **BENEFÍCIOS**

O presente estudo visa dar contribuições para o entendimento da resistência à insulina e sua relação com o metabolismo energético, porém não traz benefícios diretos ao participante.

- **DESPESAS/RESSARCIMENTO DE DESPESAS DO VOLUNTÁRIO**

Todos os sujeitos envolvidos nesta pesquisa são isentos de custos (ou seja, não pagarão nada para participarem). Tanto os pesquisadores como os participantes do estudo não receberão nenhum auxílio financeiro para a realização desta pesquisa.

- **PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA**

A sua participação neste estudo é **voluntária** e você terá total liberdade para desistir do estudo a qualquer momento, sem que isso acarrete qualquer prejuízo à você.

- **GARANTIA DE SIGILO E PRIVACIDADE**

As informações relacionadas ao estudo são confidenciais e qualquer informação divulgada em relatório ou publicação será feita de forma codificada, para que a confidencialidade seja mantida. Os pesquisadores garantem que seu nome não será divulgado sob hipótese alguma.

- **ESCLARECIMENTO DE DÚVIDAS**

Você pode e deve fazer todas as perguntas que julgar necessárias antes de concordar em participar do estudo.

COMITÊ DE ÉTICA DO SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Fui informado que este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética do Setor de Ciências Biológicas e que no caso de qualquer problema ou reclamação em relação à conduta dos pesquisadores deste projeto, poderei procurar o referido Comitê, localizado na Direção do Setor de Ciências Biológicas, Centro Politécnico, Universidade Federal do Paraná.

Diante do exposto acima eu, _____ abaixo assinado, declaro que fui esclarecido sobre os objetivos, procedimentos e benefícios do presente estudo. Concedo meu acordo de participação de livre e espontânea vontade. Foi-me assegurado o direito de abandonar o estudo a qualquer momento, se eu assim desejar. Declaro também não possuir nenhum grau de dependência profissional ou educacional com os pesquisadores envolvidos nesse projeto (ou seja,

os pesquisadores desse projeto não podem me prejudicar de modo algum no trabalho ou nos estudos), não me sentindo pressionado de nenhum modo a participar dessa pesquisa.

Curitiba, _____ de _____ de 2006.

Sujeito
RG

Pesquisador
RG